

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE
L'ALEXINE

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale
et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

Le 1942

PAR

Jacques RANQUE

Né le 6 Mars 1915, à Marseille

Délégué dans les fonctions de Préparateur de Parasitologie à la Faculté

Chef de Laboratoire à la Clinique Dermatologique

Ex-Interne des Hôpitaux

Diplômé d'Hygiène

Diplômé de Médecine Coloniale

Médecin breveté de la marine marchande

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

Examineurs
de la Thèse

MM. les Professeurs :

CORNIL, *Président*

ROUSLACROIX

VIGNE

SAUTET

Assesseurs

MARSEILLE

IMPRIMERIE DE LA SOCIÉTÉ DU « PETIT MARSEILLAIS »
19^e, Cours du Vieux-Port, 19^e

1942

CONTRIBUTION A L'ETUDE
DE
L'ALEXINE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE
L'ALEXINE

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale
et Coloniale et de Pharmacie de Marseille

Le

1942

PAR

Jacques RANQUE

Né le 6 Mars 1915, à Marseille

Délégué dans les fonctions de Préparateur de Parasitologie à la Faculté
Chef de Laboratoire à la Clinique Dermatologique

Ex-Interne des Hôpitaux

Diplômé d'Hygiène

Diplômé de Médecine Coloniale

Médecin breveté de la marine marchande

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

Examineurs
de la Thèse

MM. les Professeurs :

CORNIL, *Président*

ROUSLACROIX

VIGNE

SAUTET

Assesseurs

MARSEILLE

IMPRIMERIE DE LA SOCIÉTÉ DU « PETIT MARSEILLAIS »

19^e, Cours du Vieux-Port, 19^e

1942



PERSONNEL DE LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE GÉNÉRALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Doyen : L. CORNIL

Doyen Honoraire : L. IMBERT

Assesseur : F. MERCIER

Professeurs Honoraires : MM. MOITESSIER, CASSOUTE

OLMER, GAUJOUX, AUBARET, COTTE

Chargé de Cours Honoraire : M. TIAN

Secrétaire : J. COMTE

Bibliothécaire : M^{me} PEROL

Professeurs

Anatomie	MM. CORSY
Anatomie Pathologique et Pathologie Expérimentale.....	CORNIL
Bactériologie	ROUSLACROIX
Chimie Analytique et Hydrologie.....	RIMATTEI
Chimie Médicale	ROCHE
Clinique Chirurgicale	FIOLLE
Clinique Chirurgicale	BOURDE
Clinique Exotique	HECKENROTH
Clinique des Maladies Nerveuses.....	ROGER
Clinique Médicale	AUDIBERT
Clinique Médicale	MATTEI
Clinique Médicale	MONGES
Clinique Médicale Infantile.....	GIRAUD
Clinique Obstétricale	VAYSSIÈRE
Clinique Ophtalmologique	JAYLE
Clinique Oto-Rhino-Laryngologique	BREMONT
Clinique Urologique	CHAUVIN
Histoire Naturelle	N.
Histologie	ROMIEU
Hygiène Générale et Coloniale.....	VIOLLE
Médecine Légale	MOSINGER
Parasitologie	JOYEUX
Pathologie Chirurgicale	MOIROUD
Pharmacodynamie et Matière Médicale.....	F. MERCIER
Pharmacie	VIGNOLI
Physiologie	MALMEJAC
Physique	CHEVALLIER
Thérapeutique	POINSO
Professeur sans chaire	POURSINES

Chargé de Cours

Clinique Dermatologique	M. VIGNE
-------------------------------	----------

Agrégés en exercice

MM. SAUTET, DUBOULOZ, BERTHIER, BALANSARD, BRAHIC, FIGARELLA, ARNOUX
CHOSSON, DELPHAUT, R. IMBERT, PAILLAS, AUDIER, DOR, RECORDIER, SALMON

Agrégés libres

MM. QUINTARET, PIERI

Chargé des fonctions d'agréé

Chimie médicale	M. DERRIEN
Physiologie	DONNET

Chargés de Cours complémentaires

Anatomie descriptive et topographique.....	MM. SALMON
Chimie minérale	ARNOUX
Clinique des maladies contagieuses.....	PERIOT
Médecine opératoire	DOR
Microbiologie	BOYER
Neuro-Chirurgie	ARNAUD
Obstétrique	CHOSSON
Pharmacodynamie aux Pharmaciens.....	DELPHAUT
Psychiatrie	ALLIEZ
Toxicologie	GUILLOT
Clinique gynécologique	FIGARELLA
Clinique chirurgicale infantile	R. IMBERT
Clinique stomatologique	ACHARD

A MA CHERE FEMME

A MON FILS

que je réunis dans la plus tendre affection.

A MON PERE

*Sa belle intelligence vaste et variée,
son sens éclairé de Biologiste, sa gran-
deur d'homme et de Chrétien s'impo-
sent à tous.*

*Je lui dois beaucoup dans tous les
domaines et suis fier d'être à la fois fils
d'un tel père et disciple d'un tel maître.*

A MA MERE

*Faible témoignage de ma tendresse
infinie.*

A MES FRERES

A MES SCEURS

Avec toute mon affection.

A MON BEAU-PERE

MONSIEUR LE PROFESSEUR CHARLES JOYEUX

Professeur de Parasitologie à la Faculté
Directeur de l'Institut de Médecine Coloniale
Chevalier de la Légion d'Honneur

Sa haute intelligence et sa vaste culture n'ont d'égale que sa grande modestie.

Sa probité scientifique, sa ténacité, son ardeur au travail font de lui le modèle de l'homme de laboratoire.

L'accueil qu'il m'a réservé m'a permis de découvrir en lui les plus belles qualités du cœur et de l'esprit. Qu'il trouve ici l'expression de mon affectueuse reconnaissance.

A MA BELLE-MERE

En témoignage d'affection.

A TOUS LES MIENS

A MONSIEUR LE DOCTEUR ALPHONSE MICHEL

Chirurgien des Hôpitaux
Chevalier de la Légion d'Honneur
Croix de Guerre

*Son aspect rude cache les plus
belles qualités d'une âme chaude et
généreuse.*

*Il a bien voulu faire déborder sur
moi l'affection qui le lie à mon père.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR H. ROGER

Chevalier de la Légion d'Honneur
Professeur de Clinique Neurologique à la Faculté

*Affectueusement accueilli dans sa
famille dès mon adolescence j'ai tou-
jours admiré sa large érudition, sa
stricte conscience professionnelle jointes
à la plus grande bonté.*

A MONSIEUR LE DOYEN L. CORNIL
Professeur d'Anatomie Pathologique
et de Médecine Expérimentale à la Faculté
Directeur du Centre Régional Anti-Cancéreux
Chevalier de la Légion d'Honneur

Au nom de l'amitié qui l'unissait à nos familles, il a bien voulu, durant nos études médicales, nous entourer de son affectueuse sollicitude en nous faisant bénéficier de son lumineux enseignement et des richesses inépuisables de ses connaissances.

Nous savons apprécier l'honneur qu'il nous fait aujourd'hui en acceptant la présidence de cette thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR A. ROUSLACROIX
Professeur de Bactériologie à la Faculté
Médecin Honoraire des Hôpitaux
Chevalier de la Légion d'Honneur

Sa vaste documentation, son esprit critique joint à la plus grande indulgence nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous l'assurons de nos sentiments reconnaissants et respectueusement dévoués.

A NOTRE MAÎTRE LE DOCTEUR PAUL VIGNE
Professeur de la Clinique Dermatologique
Chevalier de la Légion d'Honneur
Croix de Guerre

*Ses belles qualités de clinicien ne le
cèdent en rien à son ingéniosité d'homme
de laboratoire.*

*Son étonnant dynamisme et sa joie
au travail rendent infiniment attrayant
son enseignement.*

*Hommage de notre affectueuse gra-
titude.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR JACQUES SAUTET
Professeur Agrégé de Parasitologie
Chargé de Cours de Médecine Sociale
Délégué Régional à la Propagande de l'Hygiène

*Ses activités sociale et scientifique
font le plus grand honneur à notre Fa-
culté.*

*En acceptant de siéger dans notre
jury de thèse, il nous a donné une nou-
velle preuve de sa sollicitude.*

A NOS MAÎTRES DANS LES HÔPITAUX

MONSIEUR LE PROFESSEUR MOIROUD

MONSIEUR LE PROFESSEUR BOURDE

MONSIEUR LE PROFESSEUR HONORAIRE CASSOUTE

MONSIEUR LE PROFESSEUR OLMER

*dont nous avons eu l'honneur d'être
l'externe.*

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ PIERI

MONSIEUR LE DOCTEUR TURRIES

MONSIEUR LE DOYEN CORNIL

Directeur des Laboratoires des Hôpitaux

MONSIEUR LE PROFESSEUR AUDIBERT

MONSIEUR LE PROFESSEUR OLMER

MONSIEUR LE DOCTEUR VIGNE

*dont nous avons eu l'honneur d'être
l'interne.*

A NOS MAITRES DU CENTRE ANTICANCEREUX

MONSIEUR LE DOYEN HONORAIRE IMBERT

MONSIEUR LE DOYEN CORNIL

MONSIEUR LE DOCTEUR BONNAL

MONSIEUR LE DOCTEUR PAOLI

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ RAYMOND IMBERT

MONSIEUR LE DOCTEUR CARREGA

MONSIEUR LE DOCTEUR HUGUET

MONSIEUR LE DOCTEUR GRETHER

*dont nous avons eu l'honneur d'être
l'interne.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ROCHE

Professeur de Chimie Biologique à la Faculté

*qui nous a réservé l'accueil le plus bien-
veillant dans son laboratoire.*

A CEUX QUI M'ONT PRÉPARÉ AUX CONCOURS

MONSIEUR LE DOCTEUR JEAN VAGUE

Ex-Interne des Hôpitaux
Chef de Clinique Médicale à la Faculté

MONSIEUR LE DOCTEUR GEORGES MONTFORT

Ex-Interne des Hôpitaux

*Avec toute ma reconnaissance et
mon amitié.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR JEAN OLMER

Médecin des Hôpitaux

*Il nous a prodigué son temps et ses
conseils. Son enseignement nous a laissé
une profonde impression.*

*Qu'il soit assuré de notre gratitude
et de notre fidèle attachement.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR E. VAYSSIERE
Professeur de Clinique Obstétricale à la Faculté

A MONSIEUR LE PROFESSEUR JEAN FIOLE
Professeur de Clinique Chirurgicale à la Faculté

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CHARLES MATTEI
Professeur de Clinique Médicale à la Faculté

*Ils ont donné de nombreuses preuves
d'amitié à notre famille.*

A MES CAMARADES D'INTERNAT

En particulier aux Docteurs :

PIERRE MICHEL

JACQUES BOUDOURESQUES

EUGÈNE HAWTHORN

JEAN MARCORELLES

GEORGES MOCKERS

PAUL LAVAL

A MON AMI

ALBERT ROGER
Lieutenant d'Artillerie Coloniale

INTRODUCTION

Si, aujourd'hui, certains biologistes n'attribuent plus à l'alexine qu'un rôle minime dans la défense de l'organisme, c'est pourtant à l'étude de l'immunologie que l'on doit la découverte de ce principe.

A la suite des remarquables travaux de Metchnikov sur la phagocytose, en 1883, l'immunité fut considérée comme un phénomène exclusivement cellulaire. Mais Grohmann (1884), Nuttall (1888), puis Buchner (1889), signalèrent les premiers l'existence d'un pouvoir bactéricide dans le sérum sanguin exempt de cellules ; Buchner constata que cette propriété disparaissait à la suite d'un chauffage à 55° pendant une demi-heure ou d'un repos prolongé à la température du laboratoire. La substance thermolabile dont la présence empêchait l'envahissement de l'organisme par des agents microbiens reçut plus tard le nom d'alexine (Buchner ; du grec ἀλεξεῖν : défendre contre). Behring et Nissen (1891) eurent le mérite d'introduire la notion de spécificité dans cette réaction de défense ; ces auteurs avaient remarqué qu'un vibron (vibron avicide : *vibrio Metchnikovi*) se développait bien dans du sérum de cobaye neuf alors qu'il était tué par du sérum de cobaye immunisé contre ce germe ; en outre, un cobaye neuf succombait après injection intra-péritonéale de vibrions, tandis qu'un cobaye vacciné résistait à ce traitement. Utilisant une souche de vibron de Koch (souche Hambourg), Pfeiffer et Isaëff reprirent l'expérience précédente et décrivirent avec précision ce qui fut appelé phénomène de Pfeiffer : si on examine au microscope en goutte pendant le comportement du vibron dans la sérosité péritonéale, chez le cobaye non vacciné le développement du vibron cholérique donne l'aspect d'une culture en bouillon ; dans la sérosité péritonéale du cobaye immunisé, au bout de trente minutes les vibrions perdent leur mobilité, puis se transforment en granules sphériques peu réfringents, ayant une très faible affinité pour les colorants usuels. Mais Pfeiffer ne pouvant effectuer la lyse *in vitro*, interpréta ces

faits comme l'expression d'une réaction locale péritonéale impossible à reproduire dans du sérum retiré de l'organisme.

Se servant de sérum frais, Bordet fut plus heureux et constata le premier le phénomène de Pfeiffer *in vitro* ; il pensa alors que l'échec de Pfeiffer avait pour cause l'emploi de sérum altéré par le vieillissement et imagina sa célèbre expérience :

« L'immunsérum chauffé vingt minutes à 55° conserve ses propriétés agglutinantes, mais perd son pouvoir lytique ; ce dernier est restauré, « réactivé », par l'addition d'une petite quantité de sérum frais d'un animal non immunisé. »

Dès lors, la bactériolyse semblait nécessiter l'intervention de deux substances :

— l'une thermostable, spécifique, apanage de l'animal vacciné : la sensibilisatrice ;

— l'autre thermolabile, s'altérant par le vieillissement, non liée à l'immunisation active et que l'on trouve chez tous les animaux, qu'ils soient vaccinés ou neufs : l'alexine, qu'Ehrlich appela complément.

Du reste, Frankel et Söbernheim (1894) avaient démontré qu'un immunsérum qui avait perdu son pouvoir lytique *in vitro*, par le repos ou le chauffage, redevenait actif lorsqu'il était injecté à l'animal vivant ; cela est conforme à la conception précédente, car on peut admettre que l'animal vivant fournit sa propre alexine. Cette théorie des « deux substances », édifiée par Bordet en 1895, a été maintenue depuis dans son intégralité.

Quelques années plus tard, ce savant appliquait ces recherches à l'hémolyse, avec succès. On savait, depuis les travaux de Buchner (1893), que le sérum d'une espèce animale pouvait hémolyser plus ou moins rapidement les globules d'autres espèces et que ce pouvoir lytique était détruit, par le chauffage à 55° pendant une demi-heure ; pour cet auteur, le pouvoir lytique était dû à une substance thermolabile : la cytase de Metchnikov ou alexine de Buchner. Bordet eut l'idée de renforcer le phénomène de défense naturelle par une immunisation artificielle. Il montra qu'à ce titre les globules rouges se comportaient de la même manière que les bactéries : leur injection à des animaux d'une autre espèce produit une sensibilisation spécifique vis-à-vis des globules injectés, hautement active, qui est l'hémolysine artificielle. Cette hémolysine thermostable ne peut agir seule après chauffage, mais est réactivée par l'adjonction d'une faible quantité de sérum frais et non

chauffé d'animal non immunisé, autrement dit par l'adjonction d'alexine. La substance thermolabile est sans doute voisine de l'alexine de Buchner à laquelle son auteur donnait un sens beaucoup plus étendu : l'alexine, suivant Buchner, représente le pouvoir toxique global des germes hétérologues vis-à-vis des cellules étrangères en général ; ce pouvoir est attribué à une substance de nature enzymatique. Il appartenait à Ehrlich et Morgenroth de corriger cette erreur d'interprétation en divisant l'alexine de Buchner en deux facteurs :

— l'un thermostable, spécifique, caractéristique de l'espèce animale, l'hémolysine naturelle, ou hémolysine qui a une activité beaucoup plus faible que l'hémolysine artificielle produite par immunisation active ;

— l'autre thermolabile, non spécifique, qui n'est autre que l'alexine au sens de Bordet.

Les conclusions d'Ehrlich et Morgenroth rejoignaient donc en tous points celles de Bordet et de l'école française. S'il persistait encore quelques différences de terminologie, tout le monde s'accorda pour admettre que toute réaction de défense, se traduisant par la lyse cellulaire, résultait de la synergie de deux substances :

1° L'une thermostable, spécifique vis-à-vis de la cellule antigène à lyser, qui n'a pas d'activité lytique par elle-même, mais qui semble avoir pour fonction de rendre la cellule vulnérable à l'action de la substance lytique proprement dite, d'où son nom de sensibilisatrice ou mordanceur ; Ehrlich l'appelle ambocepteur ; c'est un anticorps ; suivant qu'il s'attaque aux bactéries ou aux hématies, il s'agit de bactériolysine ou d'hémolysine.

2° L'autre thermolabile, non spécifique, qui possède l'activité lytique proprement dite sur des cellules sensibilisées, c'est l'alexine ou complément, encore appelée cytase.

Fait important : une alexine d'une espèce animale donnée réactive la sensibilisatrice d'une autre espèce animale. Etant donnée notre connaissance très imparfaite du substratum chimique et de la nature même de l'alexine, il semblerait plus raisonnable de parler de propriété alexique ou de pouvoir complémentaire.

Cependant, le processus bactériolytique n'affectait en réalité qu'un certain groupe de germes comme les vibrions ; d'autres tels que le staphylocoque, le streptocoque, le pneumocoque ou le bacille de Loeffler ne se révélèrent pas aptes à la lyse biologique. Allait-

on pour cela diminuer l'importance des facteurs alexine et sensibilisatrice ? Bordet devait écarter cette supposition : il montra que la lyse n'était qu'un épiphénomène apparent, tandis que le fait principal et absolument général résidait dans la fixation de l'alexine par l'antigène sensibilisé ; la qualité de l'antigène seule semble régir ensuite l'aspect tangible de l'activité alexique ; nous ne saurions mieux faire que de citer les termes mêmes de Bordet à ce sujet : « En réalité, ainsi qu'on peut s'en convaincre en soumettant ces microbes moins vulnérables à l'épreuve dite de la fixation de l'alexine, on constate régulièrement qu'ils adsorbent énergiquement ce principe en présence de l'immunsérum approprié. La production de sensibilisatrices comme celle d'agglutinines est un fait général ; ce qui varie, c'est la sensibilité du microbe à l'influence nocive de l'alexine dont l'anticorps a provoqué la fixation ». Mais comment pouvait-on apprécier, en dehors de tout test visible, l'action alexique sur ces germes non lysables ? Bordet et Gengou résolurent le problème par une méthode d'une simplicité et d'une logique véritablement géniales : l'alexine adsorbée dans un premier temps par des germes convenablement sensibilisés, qu'ils soient lysables ou non, reste fixée sur eux et ne pourra plus agir ultérieurement sur un second complexe antigène-anticorps dont il est ordinairement facile d'apprécier la lyse ; ce dernier complexe, réactif sensible de la présence ou de l'absence d'alexine libre, est constitué par des globules rouges sensibilisés ; rien n'est plus facile, en effet, que la lecture d'un phénomène hémolytique ; dans une réaction de fixation de complément, la présence d'hémolyse signifie donc que l'alexine n'a pas été fixée dans la première partie de la réaction, son absence, au contraire, prouve que l'alexine a trouvé, dans le premier temps de l'épreuve, un antigène capable de l'absorber, c'est-à-dire un antigène convenablement sensibilisé par l'anticorps correspondant.

La recherche de la déviation du complément s'appliqua bientôt à une foule de complexes antigène-anticorps et donna un grand essor à l'étude de l'alexine. Mais si, depuis cette époque, la littérature concernant ce sujet s'est considérablement enrichie de faits pleins d'intérêt, elle s'est le plus souvent encombrée de renseignements contradictoires et d'interprétations délicates. Cela explique la répugnance que l'on a éprouvée à s'attaquer à une étude générale de la propriété complémentaire. Si l'on excepte la belle monographie d'Osborn parue en 1937, un très intéressant article de

Scartozzi datant de la même époque, et le chapitre que réserve Diacono à l'alexine dans son livre sur l'hémolyse, il n'existe pas, et tout particulièrement en France, de travaux d'ensemble consacrés à cette question. C'est pourquoi, partant de certaines recherches cliniques et expérimentales qui constituaient le but primitif de notre thèse, nous avons été amené à en élargir progressivement le cadre pour faire une mise au point de tous les problèmes qui intéressent l'alexine. Nous exposerons donc les faits et théories qui ont été publiés en les classant logiquement et en y ajoutant les observations personnelles qui ont retenu plus particulièrement notre attention ; nous nous efforcerons ensuite de tirer de ces éléments des conclusions biologiques prudentes dans la limite de nos connaissances actuelles. Disons cependant tout de suite que, malgré certaines opinions récentes, l'alexine paraît conserver une importance considérable en biologie. En effet, si les premiers travaux nous montrèrent l'intervention de l'alexine en immunologie dans les phénomènes lytiques, si les découvertes de Bordet nous apprirent ce phénomène général de la fixation du complément, les relations connues de l'alexine avec l'opsonification, le pouvoir auxilytique, le pouvoir disperseur, ses rapports possibles avec la coagulation, avec la digestion des protéines étrangères ou avec la thermo-régulation ont considérablement élargi le champ de l'activité complémentaire, si bien qu'on pourrait définir actuellement l'alexine comme « l'ensemble des propriétés thermostabiles du sérum sanguin ou des exsudats ». Parmi ces propriétés, les unes sont tangibles *in vivo* aussi bien qu'*in vitro*, d'autres ne se perçoivent directement qu'*in vitro* ; enfin, certaines observations cliniques, comme par exemple les relations entre alexine et frisson, permettent d'émettre des hypothèses qui, si elles reposent sur des bases expérimentales encore insuffisantes, n'en paraissent pas moins vraisemblables. Peut-être avons-nous tendance à rapporter trop de faits au rôle de l'alexine ou au contraire n'apercevons-nous que quelques aspects de ce problème si complexe ?

Il semble qu'une propriété aussi répandue, aussi universelle que la propriété alexique, comme le prouve cette donnée capitale qu'une alexine d'une espèce animale réactive le sérum d'une autre espèce, il semble qu'une telle propriété ne puisse exister sans avoir un but biologique. Mais alors, comment concevoir les mêmes phénomènes vitaux chez des êtres dépourvus d'alexine, comme ces cobayes appartenant à des races analexiques que nous apprennent

à connaître Moore et Coca, ou comme ces hommes dont Scartozzi nous signalait récemment la déficience familiale en complément ?

Cette objection est évidemment très troublante ; c'est pourquoi il est de notre devoir non seulement de ne pas la passer sous silence, mais encore de la mettre en évidence au début même de ce travail. Il est permis de supposer que chez de tels êtres, il n'y a pas de déficience totale du pouvoir alexique dans le sens le plus large du mot, mais simplement une absence des manifestations extérieures que nous constatons habituellement. L'extrême labilité du principe complémentaire se trouve-t-elle exagérée au point de faire disparaître toute activité alexique dès que le sang est retiré de l'organisme ? Doit-on invoquer l'effet de substances anti-complémentaires qui seraient neutralisées *in vivo* au moment où l'action alexique deviendrait nécessaire ? Il existe, en effet, des sérums spontanément anti-complémentaires. Enfin, ne s'agit-il pas de phénomènes d'auto-fixation empêchant la circulation d'alexine libre ? Autant d'hypothèses invérifiées, mais qui n'en demeurent pas moins tout à fait plausibles. De toutes façons, l'existence de sujets apparemment analexiques ne saurait constituer une preuve suffisante de l'inutilité de la fonction complémentaire que nous nous proposons d'étudier.

FRACTIONNEMENT DE LA PROPRIÉTÉ COMPLÉMENTAIRE

Lorsqu'on connaît la fragilité du complexe complémentaire, on comprend aisément pourquoi la chimie n'a pu apporter de solution définitive au problème de la composition de l'alexine ; il a été impossible de découvrir le support chimique de la propriété complémentaire ; du reste, l'alexine ne semble pas représenter une substance unique bien définie mais plutôt un ensemble de fonctions résultant d'activités diverses appartenant à des facteurs distincts. En somme, dans l'état actuel de nos connaissances, tout ce que l'on est arrivé à obtenir, c'est un fractionnement du pouvoir complémentaire en plusieurs composants dont on ignore la formule chimique mais qui possèdent certaines propriétés caractéristiques.

Nous ne ferons que mentionner l'opinion d'Ehrlich et Sachs qui, pour des raisons plus doctrinales que scientifiques, essayèrent d'appliquer à l'alexine leur fameuse théorie des chaînes latérales : pour ces auteurs, l'alexine serait formée de deux groupements, l'un haptophore ou élément combinable, l'autre toxophore qui constitue la partie véritablement active, celle qui est responsable de la lyse ; le chauffage à 52° ne détruit que le groupe toxophore et le complément ainsi mutilé reçoit le nom de « complémentotoïde » ; en saturant les affinités complémentophiles de la sensibilisatrice grâce au groupe haptophore qui lui reste, le complémentotoïde empêche l'action alexique d'un sérum frais introduit ultérieurement.

En réalité, comme le pensait Bordet et comme le prouva Gay, il s'agissait là d'une simple vue de l'esprit ; le chauffage à 52° ne saurait dissocier les propriétés lytiques et fixatrices, mais affaiblit simplement l'action alexique.

Il fallut donc se diriger vers des méthodes de fractionnement plus rigoureuses.

Premier et deuxième composants

Reprenant les recherches de Buchner qui, en 1893, avait étudié les effets de la dialyse ou de la dilution en eau distillée sur l'activité alexique des sérums, Ferrata, le premier, en 1907, eut l'idée de séparer les fractions albumine et globuline des protéines sériques. Il utilisa pour cela une dialyse de 24 heures contre eau distillée et obtint ainsi un précipité contenant les globulines tandis que l'albumine restait à l'état soluble. Si l'on reprenait le précipité de globuline par du sérum physiologique, celui-ci ne possédait plus d'activité alexique ; il en était de même du liquide surnageant contenant l'albumine. Mais si l'on mélangeait à nouveau la fraction albumine et la fraction globuline, le pouvoir complémentaire se trouvait restauré. Ce double phénomène de séparation et de réactivation, si caractéristique de l'alexine, permit de scinder le pouvoir complémentaire en deux éléments : l'un siègeant dans la fraction globuline, le premier composant ; l'autre appartenant à la fraction albumine, le deuxième composant.

D'autres procédés de fractionnement ne tardèrent pas à confirmer pleinement les résultats de Ferrata.

Sachs et Altmann précipitent la globuline en faisant agir 8,2 volumes d'acide chlorhydrique N/300 sur 1 volume de sérum ; ils laissent s'effectuer la réaction une demi-heure ou une heure ; le précipité est ensuite centrifugé puis repris dans de l'eau distillée, après quoi on le ramène à la neutralité et à l'isotonicité par l'addition de 0,8 volume de soude N/30 ou N/25 en solution chlorurée sodique à 10 %.

Liefmann et Andrew emploient une méthode analogue, mais ils remplacent l'acide chlorhydrique par une solution d'acide acétique N/250.

Utilisant l'acide carbonique, Liefmann améliore sa technique ; dans un mélange constitué par 1 volume de sérum et 9 volumes d'eau distillée, on fait barboter du gaz carbonique pendant 10 minutes ; le précipité est séparé par centrifugation et le liquide surnageant est aspiré à la pipette ; on reprend le précipité par l'eau distillée saturée de gaz carbonique et on centrifuge à nouveau ; ce lavage est répété plusieurs fois et le précipité est finalement dissous en eau physiologique ; le liquide surnageant est à nouveau traité par CO_2 puis centrifugé ; cette précipitation est recommandée jusqu'à ce qu'il n'apparaisse plus aucun précipité ; on ajoute

alors une quantité suffisante de chlorure de sodium pour ramener à 9 p. 1.000.

Que l'on utilise l'acide chlorhydrique ou le gaz carbonique, les fractions obtenues sont identiques puisqu'un composant obtenu par la première méthode réactive l'autre composant obtenu par le second procédé de fractionnement, et réciproquement. Du reste, Ferrata, sans le savoir, effectuait la même réaction que celle de Liefmann car, dans la dialyse en eau courante, c'est le CO^2 dissous qui favorise la précipitation des globulines, tandis qu'une eau pure et non agitée détruit l'alexine sans réversibilité possible, comme nous le verrons plus loin.

Brand et Ecker nous apprirent que la fraction globuline devait agir avant la fraction albumine. Les hématies sensibilisées traitées par la fraction globuline, imprégnées par elle, séparées ensuite par centrifugation, sont lysées par l'addition de la fraction albumine ; mais si l'on renverse l'ordre des opérations (albumine avant globuline), il est impossible d'obtenir une hémolyse. Ehrlich saisit ce fait pour appliquer une fois de plus sa théorie des groupes haptophores et toxophores ; la fraction globuline jouait le rôle d'intermédiaire entre le complexe antigène-ambocepteur et la fraction albumine ; c'est pourquoi il la nomma « Mittelstück » ou « Midstück » qui devint la « mid-piece » des auteurs anglais et, pour les biologistes français, le chaînon central ou la pièce intermédiaire. La fraction albumine, responsable de l'action lytique proprement dite, recevait le nom d'endstück, en anglais endpiece, en français chaînon terminal.

Il a été prouvé par la suite que cette conception était erronée, l'action du chaînon moyen ne se limite pas à un rôle d'intermédiaire, notamment dans le phénomène de conglutination où il paraît avoir une part prépondérante ; le chaînon terminal n'est plus le dernier constituant à agir sur les antigènes sensibilisés depuis que l'on connaît le troisième composant ; cependant, les termes de midstück et d'endstück, entrés dans le langage courant ainsi que leurs différentes traductions, continuent à désigner le premier et le deuxième composants.

Les hématies déjà sensibilisées, qui ont subi l'action du midstück, sont dites « persensibilisées ».

Boehncke et Braun affirment que le complément bactéricide est lui aussi scindable en midstück et endstück, aucune des parties employées isolément ne possède d'action lytique, le pouvoir alexi-

que ne se manifeste que lorsqu'elles sont réunies. Ce fait constitue un argument sérieux en faveur de l'unicité du complément.

La séparation de l'alexine en endstück et midstück revêt un caractère très général en biologie animale ; on l'observe chez tous les animaux, entre autres chez les animaux à sang froid comme l'anguille (Liefmann et Andrew) ou la grenouille (Froenkel et Liefmann) ; bien plus, endstück et midstück d'espèces différentes peuvent aisément se compléter et se réactiver. Cette séparation peut s'effectuer *in vivo* : par exemple, le liquide d'œdème, les transudats ne contiennent que le chaînon terminal de l'alexine. Le premier et le deuxième composants sont thermolabiles ; une température de 55° pendant une 1/2 heure ou de 56° pendant dix minutes les détruit complètement. Pour Ferrata et Schmidt, le midstück serait légèrement plus résistant à l'action de la chaleur ; Guggenheimer est de l'avis opposé. Mutermilch prétend que le chaînon terminal est plus thermolabile tandis que le chaînon intermédiaire serait plus sensible à l'action du vieillissement ou à celle de l'agitation.

L'endstück est moins facilement absorbé que le midstück, que ce soit sur le kaolin, sur les bougies Berkefield ou sur les éléments figurés ; ainsi le midstück est fixé entièrement par les hématies sensibilisées alors qu'il reste encore de l'endstück à l'état libre après l'hémolyse ; l'action nuisible de l'agitation sur le midstück peut s'expliquer par la production d'un précipité qui entraînerait cette fraction plus absorbable.

On a pu formuler certaines objections en ce qui concerne cette division de l'alexine en midstück et endstück ; en effet, certains auteurs ont effectué des lyses avec les composants isolés ; en réalité, il s'agissait simplement de séparation incomplète des deux fractions. C'est ainsi que Schubert a décelé une activité complémentaire appréciable dans beaucoup de globulines, même après un lavage soigneux.

On connaît mal les proportions de midstück et d'endstück qui réagissent dans une hémolyse ; il semble qu'elles soient régies par la loi d'action de masse, un excès d'un des constituants peut produire l'inhibition. Les conditions optima pour la production de l'hémolyse paraissent réalisées quand elles correspondent à l'équilibre sérique du sang normal. Les méthodes de fractionnement actuelles ne permettent pas de déterminer les quantités des constituants séparés. En fait, les deux premiers composants semblent

avoir une certaine indépendance quantitative ; dans les sérums de différents animaux, ils sont répartis de façon assez variable ; on peut renforcer l'action complémentaire de ces sérums en ajoutant un seul des deux composants (Landsteiner ; Liefmann et Cohn ; Froenkel et Braun ; Guggenheimer) ; l'addition de la fraction albumine est généralement plus efficace (Sachs et Bolkowska). Dans les sérums à complément faible c'est le chaînon terminal qui paraît déficient, la fraction globulinique est présente en quantité satisfaisante. Mais, comme l'ont observé Scartozzi et Bolaffi en pathologie humaine, on rencontre souvent une augmentation du pouvoir complémentaire parallèlement à la diminution du rapport albumine-globuline, alors que la protéine totale ne varie pas ; c'est ce qui se passe dans les tuberculoses pulmonaires graves ou à certaines périodes de la grossesse.

Cependant, restait à connaître le support chimique de ces deux composants. Leur destruction par la chaleur ou par les extraits pancréatiques (Michoelis et Skwinsky, 1910 ; Gordon et Wormall, 1926) avait fait penser à une nature protéique et c'est pourquoi on essaya, mais sans succès, de leur appliquer la méthode de fractionnement des protéines sériques par le sulfate d'ammonium. La précipitation par le sulfate d'ammonium donne des fractions entraînant l'activité complémentaire suivante :

1°) Précipitation à 33 % par le sulfate d'ammonium saturé (englobuline), pas d'activité propre, ni réactivation d'autres éléments fractionnés.

2°) Précipitation à 50 % avec sulfate d'ammonium saturé (pseudoglobuline) : l'activité est presque aussi considérable que celle du sérum originel, l'addition de fraction albumine paraît augmenter parfois le pouvoi alexique.

3°) Le liquide surnageant contenant la fraction albumine ne possède aucune activité propre mais parfois renforce celle de la pseudoglobuline.

Tels sont les résultats obtenus par Browning et Mackie en 1914. Quelques années plus tard, en 1926, miss Parsons reprend la question et arrive à des conclusions légèrement différentes :

1°) La globuline à 33 % (saturation) n'a aucune action par elle-même mais peut éventuellement avoir un pouvoir anti-complémentaire.

2°) La pseudoglobuline ($\text{SO}^4 \text{ Am}$ à 50 % saturé) a occasionnelle-

ment une activité complémentaire qui s'accroît toujours par addition d'albumine.

3°) L'albumine n'a jamais d'activité par elle-même, mais elle augmente toujours celle de la globuline.

En 1930, Tokunaga modifie le procédé ; il ajoute des quantités croissantes de sulfate d'ammonium à une série d'échantillons de sérum, il trouve que le complément s'accroît jusqu'à la demi-saturation ensuite il reste invariablement aussi actif que dans le sérum originel.

L'emploi du phosphate de soude (méthode de fractionnement de A. M. Butler) nous a donné des renseignements aussi peu concluants.

En 1935, Doladilhe semble avoir fait effectuer quelque progrès à l'étude des protéines sériques ; cet auteur revient au mode de précipitation par le CO_2 , les phénomènes paraissent plus complexes que ne l'avaient montré les travaux de Ferrata ; si l'on reprend le précipité de CO_2 globuline par de l'eau physiologique et si l'on refait passer un courant de CO_2 , il se forme un nouveau précipité contenant la protéine A tandis que le liquide surnageant renferme la protéine B ; c'est sur cette protéine B que se trouverait le chaînon central ; elle est précipitable par l'alcool et trois fois moins riche en phosphore que la protéine A ; donc, la propriété du chaînon central de l'alexine que possède le complexe CO_2 globulines serait due non pas au complexe total mais aux protéines B ; celles-ci représentent la fraction la plus stable et la moins riche en phosphore de ce groupe protéique. Poussant ces investigations plus loin, Doladilhe isole une nouvelle fraction qu'il appelle protéine C. Il traite comme précédemment le précipité CO_2 globuline repris en eau physiologique par un nouveau courant de CO_2 , mais cette fois il opère à chaud ; la protéine A précipite ; la protéine B contenue dans le liquide surnageant est séparée par pipetage ; au moment du refroidissement il se produit une autre précipitation qui entraîne la protéine C. Cette dernière est une substance colloïdale dont l'équilibre granulaire se rompt à froid et se rétablit à chaud ; cependant elle peut, au-delà d'une température voisine de 56° , se stabiliser et devenir soluble. Le vieillissement paraît accroître la sensibilité de cette protéine à l'action floculante du gaz carbonique en même temps que sa sensibilité thermique décroît. Il était intéressant de rechercher les rapports de l'alexine avec cette protéine C qui est un des constituants du groupe B auquel est

attaché le chaînon central ; Doladilhe et Mlle M. Michel observent que la protéine C homologue ou étrangère, ajoutée en doses croissantes à des mélanges fixes antigène-anticorps et alexine exerce une action favorisante ou inhibitrice suivant l'état de cette protéine C : 1°) le vieillissement de la protéine C, séparée du sérum et conservée stérilement, augmente son pouvoir anticomplémentaire et diminue son pouvoir favorisant ; 2°) son chauffage diminue et le pouvoir favorisant et le pouvoir anticomplémentaire ; 3° la protéine C fraîche et non chauffée a une propriété nettement favorisante. Dans un second groupe d'expériences, les mêmes auteurs ajoutent des doses croissantes de protéine C à un sérum dépourvu de son chaînon central (CO^2 globuline) ; dans ce cas, la protéine C complète l'action du chaînon terminal, en remplaçant le chaînon central ; autrement dit, le midstück de l'alexine accompagne dans son isolement la protéine C, qu'elle provienne d'un sérum homologue ou étranger. Cette protéine C apparaît sinon comme le substratum chimique du chaînon moyen du moins comme le support physique par lequel il est entraîné.

Mais, quel que soit le mode de séparation auquel on ait recours, que deviennent les autres facteurs du sérum au moment de ces précipitations ? L'addition de lécithine au sérum avant son fractionnement par le CO^2 donne, par la suite, une albumine séparée aussi hémolytique à elle seule que le mélange endstück et midstück d'un sérum sans lécithine (Cruikshank et Mackie) ; dans ces expériences, le chaînon moyen est seul inactif, mais peut réactiver un chaînon terminal ordinaire. Horino confirme cette observation et montre que les acides gras ou leurs éthers ainsi que le cholestérol ont la même action. Or, si après séparation normale la lécithine, le cholestérol ou les éthers d'acide gras sont ajoutés à la fraction albumine, on ne note pas d'activité hémolytique. On peut donc supposer que l'effet activant de la lécithine est dû au transfert, avant la séparation, d'une petite quantité de midstück de la globuline à l'albumine.

Reprenant l'hypothèse de Liebermann suivant laquelle l'action complémentaire est sous la dépendance des savons présents dans le sérum, Gordon Whitehead et Wormall expliquent l'inactivation due à l'acide carbonique par l'intervention du calcium. Si l'on fait barbotter du CO^2 dans du sérum dilué, tout le calcium passe dans la fraction albumine, partie hémolytique ; ajouté sous forme d'oléate de calcium, il se porte également sur la fraction albumine

et renforce simplement l'activité lytique comme l'a montré récemment Goldie. Des acides qui permettent d'obtenir des sels de calcium solubles, comme les acides chlorhydrique, acétique, phosphorique, se comportent de la même façon que le CO_2 (à concentration faible) ; d'une part ils donnent des composants inactifs séparément, mais dont l'activité est régénérée lorsqu'on les réunit ; d'autre part ils produisent une migration du calcium dans la fraction albumine. Les acides donnant des sels de calcium insolubles, comme l'acide oxalique ou l'acide sulfurique, précipitent tout le calcium sérique et scindent l'alexine en éléments inactivés irréversiblement, même après mélange ultérieur des deux fractions.

Les données nouvelles que nous ont fournies l'étude des réactions de floculation et leur relation avec les réactions de déviation du complément ont fait supposer que, dans le fractionnement en milieu faiblement acide, les globulines au moment de leurs précipitations se comportent comme des antigènes sensibilisés ; elles adsorbent le chaînon central et refusent le chaînon terminal.

Troisième composant

Les essais de fractionnement albumines-globulines avaient donc établi que l'alexine pouvait être scindée en deux composants thermolabiles ; les recherches de Flexner et Noguchi, 1903, de Noc, 1905, de Morgenroth et Kaya révélèrent l'existence d'un troisième composant. Ces auteurs montrèrent que le sérum frais, traité par du venin de cobra, perdait son activité complémentaire, mais que celle-ci pouvait être restaurée par l'addition de sérum normal chauffé à 56° . Employant des levures, Von Dungern, Hyde et Bier obtenaient des résultats analogues. On était donc autorisé à conclure que le venin de cobra ou les levures détruisaient seulement une partie du complexe complémentaire et que cette partie était relativement thermostable, puisqu'on la trouvait dans le sérum chauffé. Ritz le premier, Sachs et Omorokov ensuite donnèrent à cette nouvelle fraction le nom de troisième composant. Voici les principales techniques de destruction du 3^{me} composant :

1°) Procédé au venin de cobra : Tenir à l'étuve pendant une heure et quart un mélange de 1 cc. de sérum et de 0 cc. 4 de venin de cobra dilué au 1/600 en soluté physiologique ; on ajoute ensuite 0 cc. 6 d'eau physiologique pour porter le volume total à 2 cc.

2°) Procédé de la levure : Le sérum est soumis pendant une

heure et quart à l'action des cellules de levures à raison de 1 cc. de sérum pour 5 cc. de suspension de levures au 1/100 ; après quoi, les cellules de levures sont retirées par centrifugation.

Whitehead, Wormall et Gordon utilisent une poudre de levure. En dehors du venin de cobra et des levures, le troisième composant peut être détruit par d'autres traitements : émulsions bactériennes en particulier émulsion de *Bacillus prodigiosus* (Ritz et Sachs), inuline, et plus généralement par des adsorbants. Quel que soit le mode d'inactivation choisi, les produits obtenus sont parfaitement semblables ; leur activité est restaurée par l'addition de sérum chauffé et les fractions identiques ne sont jamais réactivées les unes par les autres. Il s'agit donc d'un composant unique, le troisième composant. Celui-ci semble aussi bien lié à la sérum albumine qu'à la sérum globuline ; en effet, si on divise du sérum frais de cobaye, traité par venin de cobra, en chaînon moyen et chaînon terminal, aucune de ces deux fractions isolées ne devient susceptible d'hémolyser des hématies sensibilisées par addition de sérum chauffé ; le mélange des deux fractions est indispensable à la reconstitution du pouvoir alexique par action du sérum chauffé. Le troisième composant serait cependant plus concentré sur la fraction globuline.

Le sérum préalablement chauffé résiste à l'inactivation par le venin de cobra ou par le procédé des levures.

Ce composant est relativement thermostable, mais sa résistance à la chaleur varie suivant les espèces animales ; cette thermostabilité est par exemple plus accentuée chez le porc que dans le sérum humain.

Si le troisième composant résiste relativement bien à la chaleur, il semble plus sensible à l'action d'autres agents physiques. C'est ainsi que l'agitation (Jacoby et Schutze) paraît l'altérer particulièrement. Il est, de plus, très facilement adsorbable soit sur kaolin, soit sur bougie Berkefield ; cette adsorbabilité si marquée intervient dans les procédés d'inactivation ; en effet, ce n'est pas par action toxique directe que le venin de cobra détruit le troisième composant, mais par la production d'un précipité qui entraîne ce composant. De même, c'est par un processus d'adsorption que l'on peut expliquer l'action des émulsions bactériennes, de l'inuline ou des levures, ces dernières joueraient simplement un rôle de substance inerte, puisqu'elles détruisent le troisième composant même après chauffage à 100°.

Le formol, le bisulfite de soude, sont également des agents d'inactivation.

La richesse du sérum en composant cobralabile est variable d'une espèce animale à l'autre : ainsi, le sérum de cheval, dont on connaît la pauvreté en alexine, possède un complément déficient en troisième composant ; de même l'existence de races de cobaye analéxiques, trouvée par Moore et par Coca, serait en rapport avec la faiblesse d'un composant thermostable. Il semble que, d'une façon assez générale, l'absence ou la pénurie de troisième composant soit responsable de l'infériorité du pouvoir complémentaire dans certaines espèces animales. Le sérum de porc est particulièrement riche en troisième composant.

Comment et quand intervient le troisième composant ? Au cours du processus hémolytique, son action se manifeste après celles du *midstück* et de l'*endstück*. Comme le montre Weil (1913), si l'on met à l'étuve un mélange d'hématies sensibilisées et de sérum inactivé par le venin de cobra ; si on sépare ensuite par centrifugation les globules rouges du liquide surnageant que l'on pipette, en ajoutant du sérum chauffé on provoque l'hémolyse. Dans le cas où l'on inverse l'ordre des facteurs (sérum chauffé avant sérum soumis à l'action du venin de cobra), on ne peut obtenir l'hémolyse. Le troisième composant agit donc en dernier lieu ; ce fait est confirmé par Nathan (1913) et Deissler (1932). Les hématies qui ont subi l'action de toutes les parties du complément excepté le troisième composant sont dites « hypersensibilisées », le terme est de Nathan. Le composant cobralabile constitue la fraction de l'alexine qui participe à l'élaboration du pouvoir auxilyle. Quant au mode d'action intime du troisième composant, il ne paraît pas relever d'un processus chimique avec dépense au cours de la réaction. Thorsh, Deissler ont toujours retrouvé la fraction cobralabile après la production de l'hémolyse ; ce constituant semble donc intervenir sans être fixé ni consommé au cours du phénomène biologique ; effectivement la solution hémolysée suffit encore après chauffage à réactiver fortement du sérum soumis à l'action du venin de cobra.

Il est donc permis de penser à une action physico-chimique et, comme l'ajoute justement Osborn, ici avec plus de raison que pour les autres composants : le troisième composant au stade ultime de l'action alexique créerait un état favorable à la lyse ; du reste, c'est d'une façon analogue que le composant cobralabile

paraît concourir à la production du phénomène auxylitique. Si nous citons ce fait, c'est qu'il constitue un argument favorable à la théorie précédente, mais dans l'état actuel de nos connaissances, il ne saurait s'agir que d'une simple hypothèse.

Quatrième composant

Depuis quelques années, Whitehead, Gordon et Wormall avaient entrepris l'étude des diverses actions enzymatiques sur le complément ; en 1926, au cours de leurs recherches sur l'altération de l'alexine par la lipase, ils s'aperçurent que le facteur d'inactivation n'était pas sous la dépendance du ferment lui-même, mais était dû à la présence de sels d'ammonium dans la solution de l'enzyme. Ils en vinrent ainsi à ajouter divers sels d'ammonium ou plus simplement de l'ammoniaque à des sérums frais et mirent en évidence l'existence d'un nouveau constituant, ammoniolabile, le quatrième composant. Il s'agissait bien là d'une nouvelle fraction, bien différente des précédentes : en effet, un sérum traité par l'ammoniaque peut être réactivé par l'addition de sérum chauffé une demi-heure à 56°, par l'endstück ou par du sérum soumis à l'action du venin de cobra. On a proposé de nombreux procédés pour détruire le quatrième composant ; Gordon, Whitehead et Wormall conseillent d'opérer de la façon suivante : on mélange 0 cc 25 d'une solution 5/6 normale d'ammoniaque et 1 cc de sérum à inactiver. Laisser à l'étuve à 37° une heure et quart ; neutraliser ensuite avec 0 cc 25 d'une solution 5/6 normale d'acide chlorhydrique et porter le volume total à 2 cc ; l'addition d'une plus grande quantité d'ammoniaque ou un séjour plus long à l'étuve entraîne une inactivation qui ne se limite pas au quatrième composant.

Un traitement par la méthylamine produit le même effet.

Les sels neutres d'ammonium n'ont pas d'action destructrice, mais les amines ou sels d'ammonium ayant un pH compris entre 8 et 10 sont nuisibles au quatrième composant.

Revenant à l'étude des venins de serpents, Bier trouve, en 1932, que le venin de *Bothrops jacaraca* (vipéridé) inactive le quatrième composant. Il montre, en outre, que cette destruction n'est pas due à l'ammoniaque, ni aux sels d'ammonium, ni aux amines présentes dans le venin ; une année plus tard, Toda et Mitsuse confirment pleinement ces résultats et indiquent que le venin de vipère est un agent destructeur spécifique du composant ammoniolabile,

il diffère complètement du venin de cobra qui s'attaque au troisième composant.

Plus récemment, Toda et Mitsuse (1933), ainsi que Tokano (1936), réussissent à inactiver le quatrième composant par le chloroforme ou l'éther ajouté à égal volume et évaporé ensuite. Ce procédé était en réalité connu depuis longtemps (Ottolenghi et Mori, 1905 ; Liefmann et Cohn, 1910 ; Guggenheimer, 1911), mais l'altération de l'alexine ainsi obtenue n'avait pas été rapportée à la destruction du composant ammoniolabile encore inconnu à cette époque.

Gordon, Whitehead et Wormall ont bien étudié les propriétés de ce quatrième composant de l'alexine. Comme le troisième composant, il est thermostable, il résiste bien au chauffage à 56° pendant une demi-heure ; il est peu sensible à l'action des rayons ultra-violets. Son support paraît contenu dans la fraction non précipitable par CO² où se trouvent les albumines, fraction dans laquelle passe le calcium diffusible au moment de la précipitation des globulines. Ce fait, ainsi que la destruction par l'éther ou le chloroforme, plaide en faveur de sa nature lipodique ; du reste, Toda et Mitsuse (1933) ont prouvé que les composés du calcium, connus pour se combiner avec les lécithines, inactivent le quatrième composant.

Comme nous le verrons plus loin, le composant ammoniolabile semble être fourni ou tout au moins véhiculé par les leucocytes.

Quant au rôle qui lui est dévolu, celui-ci reste assez mystérieux, les partisans de la théorie de saponification émise par Liebermann lui donnent naturellement une grande importance. Deissler affirme que son intervention se manifeste avant la fixation du midstück.

Cinquième composant

Sa découverte est due à Toda et Mitsuse (1933) ; ces auteurs trouvent que le benzène détruit l'alexine des sérums ; celle-ci peut être rétablie par l'addition de sérum chauffé à 100° ; le cinquième composant est donc particulièrement thermostable ; cette qualité permet de le distinguer du composant ammoniolabile qui, bien que thermostable, ne supporte pas de température au delà de 66°. Ce cinquième constituant ne peut restaurer l'activité des sérums privés

du quatrième composant, ni être réactivé par ce dernier. Sa sensibilité à l'action du benzène a permis à certains auteurs de conclure à sa nature lipoïdique.

Valeur de la théorie des composants

D'après ce que nous venons d'exposer, on peut schématiquement diviser le complément en cinq composants : les deux premiers sont thermostables, c'est-à-dire détruits par un chauffage d'une demi-heure à 56° ; le premier composant ou *midstück* est contenu dans la fraction globuline, ou plus exactement dans la protéine C de Doladilhe ; le second, ou *endstück*, est lié à la sérum-albumine, aux pseudo globulines et, d'une façon plus générale, aux protéines les plus fines du sérum ; le troisième composant est cobralabile, mais thermo-résistant ; le quatrième composant est détruit spécifiquement par l'ammoniaque, il est également thermostable ; quant au cinquième composant, il est inactivé par le benzène, sa thermostabilité est particulièrement remarquable, puisqu'il résiste à la température de 100°.

Quand une de ces fractions est lésée, on peut restaurer l'activité alexique en introduisant un ou plusieurs constituants qui ont pu perdre, par action spécifique différente, un autre composant, mais qui contiennent encore celui qui a été supprimé dans la fraction lésée. Cette régénération partielle est la caractéristique principale de la propriété complémentaire.

Il est pratiquement impossible d'évaluer avec quelque précision la répartition quantitative de ces composants. Andrias Hege-düs et Hedda Greiner déterminent la nature de la déficience alexique d'un sérum donné en examinant l'influence qu'exerce l'addition des différents constituants du complexe complémentaire sur ce sérum ; celui qui augmente le plus l'activité alexique doit être le composant qui fait défaut dans le sérum à étudier. Ces auteurs trouvent ainsi que le composant II est à peu près inexistant dans les sérums de bœuf, de cheval et de mouton ; dans ces mêmes sérums, le composant III est faible, mais le I s'y trouve en grande quantité. Les sérums humains et ceux de cobayes sont riches en composants III et IV. Le composant III est particulièrement abondant dans le sérum de porc.

Il semble qu'il existe une sorte de balancement entre ces divers constituants, le composant I supplée dans une certaine

mesure à la déficience des composants II et III ; mais cette suppléance ne s'effectue qu'en-deçà de limites assez étroites.

Tels sont les faits maintenant bien établis, mais quelle est leur signification ? A part l'étude du *midstück* et de l'*endstück* qui paraît répondre à des données chimiques en rapport avec ce que nous savons sur le fractionnement des protéines sériques, l'isolement des autres composants a été le plus souvent la conséquence de découvertes fortuites à partir d'hypothèses variées.

Avec de telles méthodes qui, il faut bien le dire, rappellent un peu les disciplines de l'Alchimie, pour peu que l'on ait la persévérance d'essayer un grand nombre de produits, il ne doit pas être très difficile d'allonger cette liste de composants ; comme le dit ironiquement Scartozzi : « Chaque auteur qui a traité cette question a pu s'amuser à créer son composant ».

Prenons un exemple : nous verrons plus loin que la lumière de Wood est susceptible d'inactiver l'alexine. Dans ce processus de destruction, il est impossible de préciser quelle est la fraction complémentaire spécifiquement touchée. Faut-il pour cela conclure à l'existence d'un nouveau composant dit « photolabile » ?

En somme, la méthode de fractionnement si particulière, que l'on a utilisée pour l'étude analytique du complément, repose essentiellement sur la possibilité d'inactivations partielles des composants et sur la régénération du pouvoir complémentaire par la réunion des fractions inactivées de façons différentes. Ces réactivations mutuelles ne sont du reste pas applicables à tous les composants, voire les rapports entre quatrième et cinquième composants. De plus, l'absence de localisation chimique des trois dernières fractions complémentaires permet de penser qu'il s'agit d'éléments tout à fait artificiels, sans rapport avec les constituants connus du sérum normal. On ne se représente pas la place que pourraient occuper de tels éléments à l'intérieur du complexe sérique et c'est bien là le principal défaut de la théorie des composants.

Bier essaya de résoudre le problème par l'analyse capillaire des sérums, mais ses résultats, captivants au premier abord, perdirent d'un coup toute leur valeur à la suite des récents travaux de Robert. Plant, en 1933, a l'idée de procéder à un fractionnement du sérum par congélations successives, sans agitation ni renversement ; il obtient ainsi deux couches dont l'inférieure a une concentration alexique trente fois plus élevée que la supérieure.

Il est impossible d'attribuer la propriété alexique à tel ou tel composé sérique ; par certains côtés, elle semble en rapport avec les protéines ; par d'autres, elle paraît liée intimement aux lipides, si bien que l'on peut penser à l'existence d'un équilibre lipo-protéique qui régirait le processus complémentaire. Cette question sera reprise avec plus de détails dans le chapitre concernant le mécanisme intime de l'action alexique.

Nous nous excusons donc d'indiquer des renseignements aussi vagues et aussi peu concluants ; c'est bien là que se limitent nos connaissances actuelles ; cependant, malgré leurs imperfections, nous avons cru devoir exposer ces données maintenant classiques, car c'est par rapport à elles qu'ont été effectués de nombreux travaux.

L'ALEXINE *IN VITRO*

La plupart des propriétés de l'alexine ont été mises en évidence dans du sérum retiré de l'organisme ; quelques-unes ont été retrouvées dans l'organisme vivant, mais d'autres n'ont pu être étudiées ou même constatées qu'*in vitro* ; enfin, certaines relèvent de conditions physiologiques ou pathologiques spéciales ; c'est pourquoi, quand on entreprend l'étude du pouvoir complémentaire, on est obligé de l'envisager sous deux aspects bien distincts :

l'alexine *in vitro*,

l'alexine *in vivo*.

Nous réunirons ensuite les éléments de ces deux chapitres pour exposer dans une vue d'ensemble la signification du pouvoir complémentaire et l'étendue de son action.

I. — Facteurs agissant sur l'Alexine *in vitro*

1°) Action du vieillissement

Nous avons vu qu'un des caractères fondamentaux de la propriété alexique était sa disparition par le vieillissement. C'est pour avoir ignoré un tel fait que Pfeiffer ne put reproduire sa célèbre expérience *in vitro*. En dehors même de la labilité de l'alexine sous l'effet d'un chauffage à la température critique des sérums, 56°, le simple séjour à la température ordinaire du laboratoire altère rapidement le pouvoir complémentaire, au point de le faire pratiquement disparaître en 36 heures environ. Ceci ne veut pas dire, qu'au-dessous de 56°, la température n'intervienne pas dans la destruction de l'alexine ; en effet, nous indiquerons plus loin que l'utilisation des basses températures constitue un des moyens de conservation de l'alexine ; c'est ainsi qu'un sérum gardé à la glacière ne perd son activité alexique qu'au bout de cinq à dix jours ; à — 12° il la garderait un mois (Ruediger). Bigger, expérimentant sur du sérum stérile de cobaye, a étudié la relation existant entre la détérioration de l'alexine, le vieillissement et la température. La courbe obtenue pour des températures comprises entre 9° et 50° peut s'exprimer par la relation :

$$\frac{dx}{dt} = \frac{1}{Xn + 1} = K$$

dans laquelle x = complément restant,
 t = temps écoulé depuis le début de l'expérience,
 n et K sont des constantes.

Cependant, l'altération de l'alexine par le vieillissement représente un phénomène tout à fait différent et totalement indépendant de celui qui se passe à la température critique des sérums ; comme nous l'ont appris Hecht (1923), Gordon et Hoyle (1933), ce n'est pas la partie thermolabile du sérum qui se détruit avec le temps : en effet, les vieux sérums ont leur activité restaurée par l'addition de sérums récents chauffés à 56° pendant une demi-heure. De plus, certaines substances, qui protègent l'alexine contre l'effet nuisible de la température, n'ont aucune influence sur l'altération du pouvoir complémentaire par le vieillissement ; tel est le cas du saccharose, comme l'a montré Robert. Nous citerons enfin un autre

exemple de cette dualité d'action : le sérum de lapin est ordinairement beaucoup moins riche en alexine que celui de cobaye, tous deux sont inactivés complètement par chauffage d'une demi-heure à 56°, mais le sérum de lapin s'altère relativement beaucoup moins que le sérum de cobaye quand on les conserve à 0°.

On ignore encore à quel processus l'on doit rapporter la dégradation de l'alexine par le vieillissement. Il ne peut s'agir d'altération par action microbienne, car le fait d'opérer aseptiquement n'élimine point ce facteur de labilité. On a voulu y voir la conséquence d'un phénomène d'oxydation, les expériences de Schmidt ont permis de rejeter cette hypothèse : la détérioration de l'alexine se produit aussi bien en présence d'oxygène qu'en son absence. Nous sommes entièrement de cet avis. La conservation de l'alexine ne s'effectue pas mieux en ampoules sous le vide qu'en tubes bouchés au coton. Plus récemment, M. Mousseron et H. Huc (1939) ont apporté des renseignements un peu plus précis sur la façon dont s'opère cette dégradation : des dosages d'albumines et de globulines, ainsi que des lipides fixés à ces fractions protéiques, pratiqués sur des sérums frais et conservés à diverses températures, permettent de conclure qu'au cours de la conservation aseptique des sérums, le complexe lipo-protéique de la sérum-albumine ne subit pas de modifications importantes ; par contre, on constate une augmentation de l'entraînement des lipides par les globulines qui subissent une dénaturation pendant la conservation du sérum à 17° ou à 37°.

Mise prétend que la dilution du sérum en eau physiologique atténue les effets du vieillissement ; Osborn est de l'avis opposé.

Nous verrons, en outre, que les solutions hypertoniques ont la propriété de conserver l'activité de l'alexine.

Bien que l'explication en demeure toujours mystérieuse, nous ne saurions passer sous silence un fait expérimental observé pour la première fois par Brand en 1907 et devenu, depuis, classique sous le nom de Modification de Brand. Quand on laisse quelques heures à la température du laboratoire du midstück précipité et repris en solution saline, cet échantillon perd non seulement le pouvoir d'agir de concert avec l'endstück pour effectuer une hémolyse d'hématies sensibilisées, mais encore devient définitivement anti-complémentaire. Le midstück ainsi modifié prend le nom de « Kochsalzmittelstück ». Cette transformation serait obtenue plus facilement avec du midstück provenant de dialyse qu'avec la même

fraction séparée au moyen de CO^2 ; ceci est bien étonnant, car nous savons que fractionnement par dialyse ou CO^2 sont en réalité de nature identique. En réalité, comme l'ont montré Thomson et Leschly, le degré de dilution a une importance beaucoup plus considérable sur la rapidité de la détérioration. Pour Hecker, Friedmann et Rosenblat, Leschly et Kiss, la Modification de Brand a pour cause la formation de substances anti-alexiques ; cette considération n'apporte rien de nouveau. Braun (1911) et Boehnke (1912) ont réussi à redonner le caractère midstück à du Kochsalzmittelstück en traitant ce dernier par des hématies sensibilisées.

2°) Agents physiques

a) LA TEMPÉRATURE.

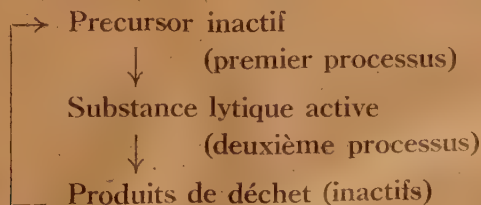
L'action de la chaleur sur l'alexine est un des facteurs les plus anciennement connus et les plus étudiés. Buchner a signalé le premier la disparition de la propriété lytique des sérums à la suite du chauffage, mais c'est à Bordet que revient le mérite d'avoir fait de la thermolabilité un des caractères principaux du complément ; c'est le chauffage à 56° qui lui permet d'édifier sa célèbre conception des deux substances. Au-dessous de cette température critique, comme l'appelle Lecomte du Noüy, la chaleur peut produire divers effets que nous étudierons plus loin. Examinons tout d'abord le phénomène d'inactivation. Nous avons déjà signalé à propos de la constitution de l'alexine les propriétés thermolabiles de chaque composant ; nous nous bornerons donc à considérer le comportement du complément total à la température critique. Le procédé classique pour inactiver un sérum consiste à le chauffer une demi-heure à 56° . En réalité, le pouvoir lytique s'affaiblit nettement vers 50° à 52° et disparaît à peu près complètement. Pour certains auteurs, il suffit d'opérer à 54° pendant une demi-heure, tandis que pour d'autres, comme Noguchi et Bronfenbrenner, à 56° l'alexine conserverait encore 25 % de son activité. Le sérum de lapin en particulier résiste partiellement à 56° (1/30 de l'activité initiale) (Kritcewski, Tcherikower, Ehrlich et Morgenroth, Verdina) ; il en serait de même pour des sérums de chèvres, de canards ou de moutons (Noguchi, Bronfenbrenner, Rémy) ; Verdina a pu observer cette destruction incomplète dans une faible proportion de sérums humains (20 %). Il n'en est pas moins vrai que l'action d'une température de 56° pendant une demi-heure est en moyenne suffisante pour éliminer pratiquement l'alexine contenue dans le sérum des

vertébrés à sang chaud ; cette dernière restriction est nécessaire, car chez les animaux à sang froid, comme la grenouille ou l'anguille, la température d'inactivation se situe aux environs de 45°.

D'après Kiss, la solution du sérum en eau physiologique atténuerait les effets de la chaleur. Friedberger indique que le complément résiste beaucoup mieux à l'état sec, l'activité d'un sérum desséché est réduite seulement de moitié quand il subit une température de 65° pendant une heure et demie ou quand il reste quatorze heures à 60°.

L'explication de ces phénomènes d'inactivation a suscité de multiples travaux qui ont abouti à l'élaboration de théories plus ou moins heureuses.

Certains faits ont permis de penser qu'il s'agissait d'une désintégration des protéines du sérum ; ainsi l'action protectrice de quelques sucres, comme le glucose ou le maltose, contre l'effet du chauffage paraît s'exercer aussi bien sur les protéines sériques que sur l'alexine. Gramenitzky (1912) observe une réactivation partielle et lente à la température du laboratoire ; cette régénération est plus marquée à 37°. Une telle réactivation peut fausser en les négativant des réactions de Bordet-Wassermann si on néglige d'effectuer la réaction peu de temps après le chauffage préalable du sérum à analyser. Ce fait est à signaler : nous l'avons souvent observé. Mutermilch (1911) indique que le *midstück* et l'*endstück* provenant d'un sérum préalablement chauffé peuvent être doués de propriétés complémentaires après leur réunion, si l'on attend un certain temps ; cet auteur montre, en outre, que la précipitation des globulines par la dialyse est nettement retardée par le chauffage du sérum. Lévine (1929) favorise la réactivation spontanée du sérum par le barbotage d'oxygène. Ces phénomènes d'inactivation et de réactivation avaient permis à Brooks d'édifier la théorie suivante : « Il y a dans le sérum une substance hémolytique qui est constamment décomposée en matériel non lytique et se renouvelle aux dépens d'un matériel « precursor », le cycle est ainsi compris :



La chaleur hâterait le deuxième processus et l'équilibre qui existe à la température ordinaire serait rompu à 56° en faveur des produits de déchet ; tandis que, à la température du laboratoire, le second processus serait ralenti par l'action du complément (effet d'action de masse) et il se produirait une nouvelle accumulation de complément ». Cette conception très ingénieuse a la valeur d'une simple hypothèse.

Pour Liebermann, le chauffage augmenterait l'alcalinité du sérum. L'inactivation s'expliquerait par ce changement de pH.

Aldo Natoli indique qu'un chauffage d'une demi-heure à 57° amène le déplacement ou la disparition d'un ou plusieurs points isoélectriques, mais, de l'avis même de l'auteur, ce phénomène ne peut pas être considéré comme étant à la base de la destruction du pouvoir alexique par la chaleur.

Il fallut attendre les beaux travaux de Lecomte du Noüy pour acquérir des notions plus précises sur cette question. Au cours de ses recherches sur le chauffage des sérums entre 0° et 70°, cet auteur constate qu'au niveau de la « température critique » il se produit une disparition de l'alexine parallèlement à une brusque intensification de la turbidité et de la viscosité du sérum. Reprenons les faits plus en détail.

1°) Jusqu'à 54° la tension superficielle reste relativement stable ; aux environs de 55° elle tombe en ligne droite sans manifester aucun phénomène particulier.

2°) La viscosité des sérums passe par un minimum entre 56° et 57° ; après quoi elle remonte beaucoup plus rapidement qu'elle n'était descendue. Cette augmentation de la viscosité à partir de 56° paraît en rapport avec une fixation de l'eau par les micelles protéiques, autrement dit avec un processus d'hydratation ; celui-ci aboutirait à la coagulation en continuant l'accroissement de la température. En effet, la viscosité d'une solution est régie, d'après Einstein, par le rapport du volume du solvant à celui de la substance dissoute ; quand le volume de la substance dissoute augmente, la viscosité s'accroît ; la réciproque est vraie et s'exprime avec précision par la formule de Kunitz :

$$\text{Viscosité} = \eta = \frac{1 + 0,5}{(1 - \varphi) 4}$$

dans laquelle φ représente le volume réel occupé dans le solvant par la substance en solution, exprimé en pour cent du volume total.

Utilisant cette relation, Lecomte du Noüy calcule que l'hydratation des protéines sériques augmente de 39 % au moment du chauffage à 57°.

Pour contrôler ce premier résultat, Lecomte du Noüy effectue des mesures du pouvoir rotatoire du sérum, en fonction de la température, et observe qu'un chauffage de 5 minutes produit une augmentation très nette du pouvoir lévogyre à partir de 55° ; il se confirme donc qu'aux environs de 56° il se produit des modifications structurales importantes ; ces modifications correspondent bien à une augmentation du volume des molécules protéiques, ce que prouvent les expériences suivantes : au moyen du photomètre de Vernes, Bricq et Yvon, on peut mesurer la densité optique ; celle-ci est donnée par l'inverse du rapport de la quantité de lumière transmise à la quantité de lumière incidente ; l'indice opacimétrique varie donc en sens inverse de la quantité de lumière transmise, autrement dit en fonction directe de la lumière retenue ; or, cette quantité de lumière retenue dépend de la grosseur ou du nombre des particules en suspension. D'autre part, le rapport de la quantité de lumière diffusée latéralement à angle droit (cône de Tyndall) à la quantité de lumière incidente est d'autant plus élevé que les particules sont plus grosses, plus opaques ou plus nombreuses ; dans ce cas, on a pu même calculer le volume des molécules par la formule de Lord Raylich (simplifiée) :

$$1 = C V^2 \left(\frac{N'^2 - N^2}{N'^2 + 2 N^2} \right)$$

où C = constante,

V = volume de la particule en suspension,

N = indice de réfraction de la particule en suspension,

N' = indice de réfraction du solvant.

Lecomte du Noüy a pu constater qu'à partir de la température critique du sérum, les molécules protéiques se modifient profondément ; l'accroissement du volume des micelles protéiques est à peu près proportionnel à la température, mais non pas au temps pendant lequel la chaleur est maintenue. Ce fait confirme pleinement

ce qui se passe quand on inactive un sérum par la chaleur : à 56° , l'alexine se détruit presque complètement dans les cinq premières minutes du chauffage, tandis qu'elle disparaît ensuite très lentement. Il résulte de ces belles recherches qu'à la température critique des sérums il se produit un accroissement de la viscosité, une augmentation du pouvoir rotatoire, en même temps qu'un grossissement des particules en suspension. Comme le dit Lecomte du Noüy : « Il n'y a là, en somme, qu'un seul phénomène qui se manifeste à nous de trois façons différentes : l'altération structurale (chimique) des molécules, mesurée par le polarimètre, se produit d'abord naturellement. Elle est suivie par l'agrégation des molécules sous forme de particules qui diffusent la lumière et la diffractent, ce qui permet de suivre leur accroissement en volume ; et finalement cet accroissement devient tel qu'il agit sur la viscosité du sérum, mesurée au viscosimètre.

Cette conclusion rejoignait donc l'hypothèse qu'avec son intuition habituelle M. Nicolle avait conçue quelques années auparavant : « Les alexines doivent leurs caractères essentiels sinon uniques à la petitesse de leurs micelles et à tel point que lorsque ces micelles grossissent par chauffage ou par vieillissement, la propriété alexique s'évanouit ». Il restait simplement à savoir si, par vieillissement, on obtiendrait des résultats semblables à ceux de Lecomte du Noüy. Le fait a été vérifié depuis. Cet auteur, poursuivant ses investigations, a essayé de préciser comment s'effectue l'accroissement de volume des particules protéiques sous l'influence de la température critique. Pour cela, il étudie les changements de formes de ces particules au moment de l'inactivation ; de ceux-ci dépend en partie le facteur de dépolarisation, la quantité de lumière dépolarisée étant d'autant plus grande que la configuration des particules s'éloigne davantage de la forme sphérique ; en mesurant ce facteur de dépolarisation, on peut donc suivre approximativement les déformations des particules. Les résultats obtenus grâce à cette technique permettent à Lecomte du Noüy de supposer que l'hydratation se fait non pas à l'extérieur, mais à l'intérieur de la molécule protéique ; à 55° , les molécules d'eau acquerraient une énergie cinétique suffisante pour franchir la barrière que leur opposent les forces d'attraction atomique du groupe externe, elles pénétreraient donc et ne sortiraient plus, car à 56° ces molécules se fixeraient chimiquement à l'intérieur ; « cette hydratation produirait un accroissement de volume de la molécule par suite du dépli-

ment des chaînes internes qui normalement doivent exister sous la forme de spirales ». Ces changements de structure colloïdale ne sont peut-être pas sans rapport avec les modifications de conductivité électrique qu'ont observées O. Ornu et B. Piparelli (1938). Un sérum normal porté à une température supérieure à 58° présente, en refroidissant, une courbe de conductibilité électrique qui ne se superpose pas à la courbe primitive obtenue au cours du chauffage. La distance entre les deux courbes est d'autant plus grande que la concentration du sérum est plus forte et que la température a été plus élevée.

Nous venons d'exposer avec quelques détails les effets produits par la température d'inactivation ou température critique ; en dehors de ces faits, la chaleur peut avoir d'autres conséquences. Nous avons signalé que la conservation de l'alexine s'effectuait beaucoup mieux aux basses températures, il s'agit dans ce cas d'une protection de l'activité latente, mais pour que l'activité réelle puisse se manifester, il faut un certain nombre de degrés ; en effet, on a l'habitude d'effectuer les réactions d'hémolyse dans l'étuve à 37°. On sait qu'à 0° les hématies sensibilisées ne peuvent pas fixer l'alexine (Ehrlich et Morgenroth), à cette température le midstück seul pourrait intervenir à condition que les antigènes soient fortement sensibilisés. Eagle qui étudie avec plus de précision les rapports existant entre le pouvoir complémentaire et la température trouve qu'on peut tripler le taux de l'activité alexique en passant de 10° à 40°.

b) ACTION DES RADIATIONS.

C'est un fait bien connu que la lumière altère rapidement le complément. Büchner est le premier à l'avoir mentionné, mais Girolamo apporte quelques précisions à ce sujet ; cet auteur a noté que la lumière solaire détruisait l'alexine de cobaye en sept heures ; après trois heures d'exposition, il y a déjà une diminution de moitié. D'une façon générale, cette photolabilité est plus accentuée dans les sérums dilués en eau physiologique, comme l'a constaté Ecker ; du reste, Whitehead et Wormall trouvent que le taux d'inactivation s'accroît proportionnellement à la dilution du complément en solution saline. En outre, les sérums desséchés résistent beaucoup mieux à l'action de la lumière (Schubert).

Si l'on examine les effets séparés des diverses radiations qui composent le spectre visible, on obtient les résultats suivants : les

rayons de la zone rouge-orangé-jaune ont un pouvoir destructif relativement faible, tandis que ceux de la zone vert-bleu-violet font disparaître rapidement l'alexine ; le complément est également lésé par l'action photodynamique des corps fluorescents sous l'influence de la lumière (Lichwitz).

Les radiations invisibles agissent aussi sur le pouvoir complémentaire ; les rayons infra-rouges sont pratiquement sans effet et ne peuvent devenir nuisibles qu'à très fortes doses, ils interviennent alors plus comme source de chaleur que comme radiations. Par contre, les sérums sont particulièrement sensibles à l'action des rayons ultra-violets (Courmont, Nogier, Dufour) ; la lumière de Wood est très nocive (Baroni, Jonesco, Mihaiesti). Pour Rauch, les ultra-violets à faibles doses, augmenteraient légèrement l'alexine du sérum de lapin *in vitro*, tandis qu'une irradiation trop intense ferait baisser le taux complémentaire ; comme l'ont remarqué Abelin et Stiner, la destruction de l'alexine se produit beaucoup plus rapidement lorsque le sérum est en couche mince ; en effet, le sérum est un milieu peu perméable aux rayons ultra-violets et ces derniers n'atteignent que la couche superficielle. Brooks indique que la longueur d'onde la plus efficace est approximativement de 2.530 angström.

En ce qui concerne les autres radiations, Schubert trouve que les rayons de Röntgen sont faiblement destructeurs, Merlini n'obtient aucune inactivation, tandis que pour Nishiura, celle-ci n'a lieu que si l'on emploie de très fortes doses ; on peut donc dire que l'alexine est pratiquement radio-résistante aux rayons X ; il en est de même pour les émanations du radium.

Les ondes hertziennes courtes (4 à 15 mètres) n'ont aucun effet nocif à la température normale (Izar et Famulari) ; à température élevée, leur action n'est qu'une inactivation par le chauffage (Osborn et Stammers).

En conclusion, l'alexine est détruite par certaines radiations ; celles qui paraissent les plus nocives se situent dans la zone des ultra-violets ; la nature de cette labilité est encore mal connue. Hecht (1923) signale que le sérum inactivé par la lumière de Wood peut être réactivé par l'addition de sérum chauffé, ce qui l'amène à penser que les rayons ultra-violets lèsent la partie thermostable ; en réalité, Gordon, Whitehead et Wormall établissent que les constituants thermolabiles sont encore plus lésés, l'endstück résisterait mieux que le midstück (Friedberger, Scimone et Schubert). Cette

inactivation est indépendante de la température, la vitesse de réaction est à peu près proportionnelle à l'intensité de la source lumineuse. Au cours de l'irradiation, la couleur du sérum passe de l'orange au jaune clair (Brooks).

Il est donc évident que, si l'on connaît bien l'inactivation par les radiations, l'interprétation du phénomène reste encore à préciser.

c) PRESSION.

Les effets de la pression sur le pouvoir alexique sont irréguliers et assez surprenants ; avec des pressions inférieures à 1 kg. 5, Muller obtient au début de l'action un accroissement assez net, suivi d'une diminution, puis d'une nouvelle augmentation ; il se produit ainsi toute une série d'oscillations dont l'amplitude est loin d'être négligeable. Utilisant de fortes pressions (100 kgs par 2 cm²), A. Lumière et Couturier notent que le pouvoir alexique croît rapidement dans un premier temps et retombe ensuite, en quelques heures, à la même valeur qu'un sérum témoin conservé à la même température et sous la pression atmosphérique.

d) PRESSION OSMOTIQUE.

Ce facteur a une importance considérable ; la pression osmotique régit en effet l'équilibre colloïdal, duquel dépend en partie l'action complémentaire.

Les milieux hypertoniques empêchent les manifestations du pouvoir alexique mais le protègent contre la labilité et conservent ainsi l'alexine latente ; tandis que l'hypotonicité assez prononcée détruit le complément de façon irréversible.

En effet, à partir d'une certaine concentration, les solutions de chlorure de sodium ou d'autres sels inhibent complètement l'hémolyse (Martel, 1902) ; en milieux hypertoniques, la fixation du complément sur les flocculats (Borowskaia) et d'une façon générale sur les antigènes sensibilisés est beaucoup moins marquée qu'en solution isotonique ; du reste, l'hypertonicité paraît empêcher l'adsorption de l'alexine ; le kaolin adsorbe beaucoup moins l'alexine des sérums en solutions hypertoniques ; le complément qui se fixe ordinairement, au début d'une filtration, sur les parois poreuses d'une bougie Berkefield, passe en totalité à travers ce filtre lorsque la concentration du sérum en chlorure de sodium est portée à 5 %.

Par contre, un certain degré d'hypotonicité favorise l'adsorption. Netter préconise d'employer une solution saline à 6 p. 1.000 pour sensibiliser les réactions de déviation du complément. Cependant, au-dessous d'une concentration de 5 pour 1.000, les hématies fortement sensibilisées peuvent encore fixer le midstück (Von Dungern et Hischfeld) ; la dilution en eau distillée détruit l'alexine, cette hydrolabilité de l'alexine est un fait bien connu ; le taux de dilution le plus nocif est de 10 p. 100 ; au-dessous, l'effet destructeur est moins marqué. A ce propos, il est bon de rappeler que l'eau doit être neutre et dépourvue d'acide carbonique sinon on effectue un fractionnement en albumine et globulines, comme l'avait obtenu Ferrata dans sa dialyse en eau courante ; on ne peut plus parler, dans ce cas, de destruction irréversible. Une acidification ou une alcalinisation légères produisent des effets analogues. Le chauffage préalable du sérum à 50°, 52° pendant dix minutes tout en atténuant le pouvoir complémentaire par lui-même protège le sérum contre l'hydrolabilité.

Ces différents faits prouvent que le pouvoir complémentaire est lié à l'équilibre colloïdal des micelles protéiques ; une augmentation de la concentration saline paralyse l'activité de ces micelles, en gênant leur adsorption ; les milieux hypotoniques favorisent au contraire leurs affinités de contact et partant l'action alexique ; mais à partir d'un certain degré d'hypotonicité, les particules se lysent par hydratation ou autre processus et la stabilité du complément est ainsi irréversiblement détruite.

e) FILTRATION, ADSORPTION.

C'est intentionnellement que nous avons réuni ces deux titres ; le premier de ces phénomènes n'est en réalité, dans le cas particulier de l'alexine, qu'une expression différente du second.

La facilité avec laquelle l'alexine s'adsorbe sur différents milieux constitue une des propriétés caractéristiques du pouvoir complémentaire et permet d'expliquer de nombreux processus qui se rattachent à l'activité alexique.

Landsteiner et Stankovic (1906) nous fournissent le premier exemple d'adsorption : le caillot résultant de la coagulation des protéines sériques est capable de retirer le complément d'un sérum.

Quelques années plus tard, Muir et Browning, effectuant des recherches sur le passage du complément à travers les bougies Berkefield, s'aperçoivent que dans la première portion du filtrat il y a

une forte diminution de l'alexine, dans la portion finale l'activité complémentaire redevient pratiquement égale à celle du sérum originel. D'autres auteurs confirment ces faits (Schmidt, 1914). Une seule filtration à travers une bougie Chamberland L³, sous pression de 20 cm. de mercure, suffit à faire perdre à un sérum frais tout son pouvoir alexique (Arloing, Langeron, Sempé). La disparition de l'alexine au début de la filtration et son passage à la fin ont permis de penser qu'il s'agissait non pas d'un phénomène de filtration mais d'un processus d'adsorption ; dans le premier temps de l'opération les surfaces du filtre adsorbent l'alexine ; quand celles-ci sont saturées, elles ne retiennent plus le complément qui filtre avec le reste du sérum. Il se produit du reste un phénomène tout à fait analogue avec des filtres en papier ou avec des sacs de collodion (Levaditi et Nicolau). Rappelons qu'en augmentant la concentration saline on supprime l'adsorption par les filtres (Massol et Nowaczynski). L'alexine se fixe sur toutes sortes d'adsorbants, comme le kaolin (Friedberger et Salecker, 1911), le noir animal, l'alumine (Horino). Nous citerons également : l'hydroxyde de magnésium, le sulfate de baryum, l'oxalate de calcium, l'hydrate de fer colloïdal (Henri et Cernovodeanu). Erich Lüchs (1939) indique les concentrations suivantes pour obtenir des solutions colloïdales de métaux optima pour l'adsorption de l'alexine : cuivre au 1/10.000, manganèse au 1/10.000, arsenic au 1/100, fer au 1/1.000, carbone au 1/10.000. Les sérums riches en globulines sont plus sensibles à ces agents adsorbants et tout particulièrement à l'action du cuivre. Le phosphate tricalcique adsorbe peu l'alexine (Bordet). Ajoutons de nombreuses substances organiques : l'amidon, l'inuline, la gélatine (Wassermann et Citron), la gélose (Bordet), divers lipoides comme la cholestérine (Landsteiner et Stanekovic, Eisler, Frouin), les mastics ou mieux les complexes gélatine-mastic, l'acide salicylique, les pulpes d'organes broyés (pulpes de foies, de rates, de reins, etc), le tissu placentaire (Nattan-Larier et Richard) ; certaines émulsions bactériennes même quand elles ne sont pas sensibilisées peuvent fixer l'alexine, c'est le cas d'émulsions de *Bacillus prodigiosus* (Ritz) ou de *Staphylococcus aureus* ; on pourrait voir là une objection sérieuse à la spécificité des réactions de déviation du complément, mais, d'une façon générale, les antigènes adsorbent l'alexine à un degré beaucoup plus élevé quand ils sont sensibilisés.

L'adsorption permet d'expliquer les inactivations par précipi-

tation ; au moment de leur formation, les précipités, quelle qu'en soit l'origine (venin de cobra, dialyse, etc.), entraînent l'alexine dans leur chute. Il est difficile d'établir quelle est la fraction la plus adsorbable de l'alexine ; à la suite des travaux de Fuchs, le midstück fut considéré classiquement comme l'élément fixable par excellence ; les recherches plus récentes de Strong et Culberston (1934) ont démenti cette opinion ; ces auteurs, filtrant des sérums à travers des bougies en série (afin d'éviter la saturation), observent que les composants thermolabiles sont retenus les premiers mais que, finalement, les troisième et quatrième composants sont à leur tour adsorbés.

Bier (1934) a cru pouvoir pratiquer une analyse capillaire de l'alexine ; il immerge partiellement un rectangle de papier filtre dans du sérum de cobaye jusqu'à ce que celui-ci soit complètement aspiré ; il divise ensuite le papier filtre en bandes transversales d'égale longueur et plonge ces fragments dans des tubes contenant un système hémolytique ; on peut ainsi doser l'alexine qui a été adsorbée à différents niveaux du rectangle de papier : les parties qui ont trempé directement dans le sérum n'ont aucune activité complémentaire, tandis que celles qui n'ont pas été immergées sont d'autant plus riches en alexine qu'elles étaient plus éloignées du sérum. Bier explique tout d'abord ce curieux phénomène par l'hypothèse suivante : « Il existe dans le sérum des complexes de substances complémentaire et anticomplémentaire, l'anticomplémentaire serait adsorbée au niveau de la partie basse du buvard. » Cependant, l'addition de sérum chauffé donne une hémolyse dans tous les tubes y compris ceux qui ont reçu les fragments provenant de la partie immergée ; Bier se trouve donc obligé de modifier ces premières conclusions ; il prétend alors que la partie inférieure doit son manque d'activité à l'absence d'un composant thermostabile, le troisième composant ; effectivement, la réaction s'effectuerait par addition de sérum chauffé et de sérum traité par l'ammoniaque, tandis que le sérum soumis à l'action des levures serait sans action régénératrice.

J. Robert reprend cette expérience sans pouvoir la reproduire exactement ; mais, pratiquant parallèlement aux titrages d'alexine des dosages de protéines au microkjeldal, il constate que la majorité des protéines sériques se trouve rassemblée au niveau de l'extrémité distale du papier ; donc l'alexine n'est pas décelable dans les parties immergées parce que les protéines y sont retenues

en quantité insuffisante ; il en est du reste de même pour d'autres propriétés sériques comme les sensibilisatrices ou les agglutinines. C'est le sérum en totalité qui se porte vers l'extrémité distale.

f) COURANTS ÉLECTRIQUES.

L'électrophorèse d'un liquide organique aussi labile qu'un sérum alexique n'est pas chose simple.

Fabian avait bien recherché l'influence des courants galvaniques sur l'alexine, mais les résultats ainsi obtenus étaient faussés par toute une série de facteurs secondaires : lorsqu'on utilise des électrodes en platine, en argent, en graphite, en fer ou en aluminium, on obtient au niveau de la cathode une inactivation réversible ; si l'on emploie des électrodes d'une autre matière, le sérum se coagule à l'anode et tout le complément est détruit. Au cours des expériences de Fabian le pH initial qui était de 6,7 passait après action du courant à 8,8 à la cathode et à 5,6 à l'anode. L'auteur rend les variations de pH responsables de l'inactivation de l'alexine.

La première méthode convenable d'électrophorèse des liquides organiques nous est donnée par Pierre Girard et Marguerite Lourau ; ces auteurs utilisent des électrodes impolarisables constituées par des septums de parchemin végétal qui agissent, en quelque sorte, comme électrodes secondaires et qui sont reliés aux véritables pôles par des gels protecteurs ; ces gels protecteurs ne doivent pas libérer d'ions anticomplémentaires (on peut se servir de gel de silice) ; en outre il est nécessaire qu'ils contiennent la même concentration saline que le liquide à examiner, afin d'éviter les effets d'osmose. Le sérum à étudier, placé entre les deux septums, est contenu dans un tube en U. L'appareil tout entier est plongé dans un réfrigérant (1).

Utilisant cette technique, P. Girard, M. Lourau et Pitres étudient le comportement de l'alexine dans le champ électrique ; l'application de la méthode d'électrophorèse est rendue difficile par la nécessité d'opérer en milieu isotonique ; nous savons en effet qu'en hypotonicité il se produit une dispersion des globulines et partant une diminution de l'alexine ; or, avec une concentration saline de 8 p. 1.000 il est difficile de réaliser des champs électriques

(1) Pour plus de détails, consulter : Méthode et technique de l'électrophorèse des liquides organiques. *In C. R. Soc. Biol.*, t. 116, n° 25, 1934, pp. 1.007-1.010.

élevés, alors qu'avec de plus faibles proportions d'électrolytes on obtient des voltages assez importants (33 Vcm). Dans le cas de l'alexine, on se contentera donc de déplacement assez peu prononcé et de longue durée. Avec du sérum de cobaye dilué au 1/30 en eau physiologique, au bout de 7 heures d'électrophorèse, 30 à 50 p. 100 de l'alexine se trouve déplacée vers l'anode en même temps que 50 à 60 p. 100 des protéines sériques, alors que le transport de 25 p. 100 d'hémolysines ou d'agglutinines exige, sous les mêmes conditions, le déplacement de 80 à 84 p. 100 des protéines totales. On peut donc conclure avec Girard, Lourau et Pitres que : 1°) L'alexine se comporte dans le champ électrique comme un ion dont il paraît difficile, en raison de sa sensibilité au pH, de déterminer le point iso-électrique comme les auteurs ont pu le faire pour les anticorps. 2°) Sa mobilité dans le champ électrique, notablement supérieure à celle des hémolysines ou des agglutinines, paraît être la même que celle des globulines.

g) AGITATION.

L'agitation du sérum frais fait disparaître au bout d'un certain temps le pouvoir complémentaire ; ce fait, signalé en premier lieu par Jacoby et Schutz (1909-1910), est maintenant bien connu de tous les sérologistes.

Alors que Jacoby et Schutz observent une disparition de l'alexine de cobaye après une heure et quart d'agitation, à l'aide d'un agitateur spécial, Ritz réalise à cette même température une inactivation complète en vingt minutes. Much et Siebert avaient remarqué que l'agitation diminuait fortement le pouvoir bactéricide ; Zeissler ne peut confirmer ces résultats que dans le cas du sérum humain.

Courmont et Dufour ont rapporté cette inactivation à un phénomène d'oxydation, opérant comparativement, en présence d'air, dans le vide ou sous pression d'azote, ils trouvent que dans les dernières conditions les effets de l'agitation sont beaucoup moins marqués. Schmidt est en complet désaccord avec les auteurs lyonnais et affirme que l'oxygène ne joue aucun rôle, il suppose que les divergences de résultats sont dues à la négligence de certains détails techniques comme la dilution ou le chauffage.

Bien que le mécanisme de cette inactivation soit encore mal connu, on peut penser à l'intervention d'un phénomène d'adsorption : l'agitation provoquerait la formation d'un précipité qui

entraînerait l'alexine (Schmidt et Liebers, 1909) ; en effet, en ajoutant des traces de saponine, ce qui modifie la tension superficielle et empêche les phénomènes d'adsorption de surface, Schmidt évite la diminution du pouvoir complémentaire.

Pour Spadolini, l'agitation provoquerait une concentration anormale de certains éléments autour des surfaces agitées et entraînerait une sorte de coagulation !... ?...

Quelle est la fraction du complément qui est atteinte par l'agitation. On a incriminé en premier lieu le *midstück* (Schmidt) ; en réalité, comme l'ont montré Kashiwabara, Jacoby et Ritz, Azzi, un sérum inactivé par l'agitation peut être réactivé par l'addition de la fraction globuline seule, ou de la fraction albumine séparée ou par n'importe quel sérum chauffé ; il était facile de conclure que le facteur lésé appartenait au troisième composant, mais ceci est inexact car un sérum traité par le venin de cobra présente le même pouvoir régénérateur (Azzi). On se contentera donc de rapporter cette inactivation à une lésion globale de l'alexine peut-être sous la dépendance d'une rupture de l'équilibre colloïdal.

h) CIRCONSTANCES ATMOSPHÉRIQUES.

Ce titre peut paraître d'une précision scientifique relative et surprendre au cours d'une étude sérologique. Cependant, les biologistes qui ont une certaine expérience des réactions de déviation du complément savent bien qu'il existe des jours où les réactions de Hecht donnent un pourcentage de H^0 anormalement élevé ; Jame et Jude, qui ont pratiqué de nombreux dosages d'alexine au laboratoire du Val de Grâce, ont pu observer de fortes chutes du pouvoir complémentaire par temps orageux ; de même, comme l'avaient déjà signalé Massol et Grysez, une température ambiante élevée diminue assez nettement le taux d'activité alexique. Les circonstances atmosphériques les plus défavorables à l'action complémentaire semblent réalisées par les temps chauds et humides.

3°) Facteurs chimiques

a) EFFETS DU pH.

Les variations du pH peuvent avoir selon leur intensité des conséquences diverses sur les manifestations immédiates de l'action alexique, sur la conservation de l'activité complémentaire

latente ou, à un degré plus élevé, sur la destruction du complément. C'est sous ces trois incidences que nous examinerons les effets du pH.

Le pH le plus favorable à l'hémolyse complémentaire est voisin de la neutralité, il a été donné avec quelques variations : pour Michaelis et Skwirsky c'est une réaction légèrement alcaline, correspondant au pH sanguin ; Eagle et Brewer le situent avec moins de précision entre 6,5 et 8 ; plus récemment Osborn indique que le pH optimum est voisin de 7,5. Ehrlich et Sachs (1902), Piettre et Chrétien (1927) augmentent l'activité alexique par l'addition de soude ; Andreesco obtient le même résultat avec le bicarbonate de soude. Personnellement, il nous a paru difficile de trouver des différences de pouvoir alexique entre des pH 6,8 et 7,5 ; au-delà de ces limites et avant d'atteindre les zones de destruction irréversible, l'activité alexique est notablement diminuée. L'inhibition du pouvoir complémentaire des sérums non dilués, par l'alcalinité ou par l'acidité semble avoir pour cause un manque de fixation du complément sur le complexe antigène-anticorps ; du reste, une modification du pH vers l'acidité arrive à libérer une alexine fixée sur un antigène sensibilisé ; le midstück peut cependant être adsorbé en milieu acide, mais seulement par des hématies très fortement sensibilisées.

Nous avons dit qu'entre des pH de 6,8 à 7,5 il était difficile d'apprécier des différences d'activité complémentaire, des variations de cet ordre de grandeur ont un retentissement beaucoup plus marqué sur la conservation de l'alexine. Pour Coulter (1921), le complément est moins labile entre des pH de 6,1 à 6,4. Osborn (1934) préconise également une légère acidité. A la suite de nos recherches sur les divers procédés de conservation du sang humain, nous avons acquis la conviction que la solution citratée de Wurmser (à pH acide) représentait le milieu le plus apte à protéger l'activité complémentaire latente.

La destruction du complément par les acides ou par les bases est une notion déjà ancienne (Ehrlich et Morgenroth, Ehrlich et Sachs, Noguchi, Brooks). Comme nous l'avons déjà signalé, c'est par une accumulation des ions OH que Liebermann explique l'inactivation de l'alexine par la chaleur.

Il convient de ne pas confondre la destruction définitive du complément, par des modifications importantes du pH sur des sérums non dilués, avec l'action des acides sur des solutions séri-

ques étendues ; dans ce dernier cas il s'agit simplement d'un fractionnement en éléments qui peuvent se réactiver mutuellement.

Quand on augmente l'acidité ou l'alcalinité d'un sérum frais on constate tout d'abord une diminution, une inhibition du pouvoir complémentaire, puis à partir d'une certaine concentration en ions H ou en ions OH il s'effectue une véritable inactivation irréversible. Eagle et Brewer prétendent que cette destruction définitive commence à des pH de 4,8 du côté acide et de 8,8 du côté alcalin. Brooks arrive à descendre jusqu'au pH 4,3. En réalité, il est très difficile de situer exactement les zones où commencent ces altérations irréversibles, quand on songe aux doses d'acides ou de bases qu'il faut employer pour faire varier à ce point le pH d'un milieu tamponné comme le sérum ; quand, en neutralisant ensuite, on obtient une concentration saline considérable qu'il importe de faire disparaître par dilution pour effectuer le dosage, il est facile d'imaginer toutes les causes d'erreurs et d'altérations qui peuvent résulter de toutes ces manœuvres. Pour notre part, il nous a été impossible de retrouver la moindre trace d'activité alexique au-dessous du pH 5 et au delà du pH 8,4.

A la suite de ses recherches, Brooks avait conclu que l'inactivation irréversible se produisait lorsqu'on dépassait le point iso-électrique constant des protéines du sérum ; tout ce que l'on peut dire, c'est qu'à partir d'un certain degré d'alcalinité ou d'acidité on aperçoit dans le sérum traité la production d'un trouble très accentué qui témoigne des profondes modifications physico-chimiques subies par le complexe sérique.

b) OXYGÈNE.

L'oxygène semble avoir une influence nettement favorisante dans la production de diverses inactivations physico-chimiques. telle est l'opinion de Jacoby et Schutz, de Simmitzky, de Courmont, Nogier et Dufour. Nous ne reviendrons pas sur les discussions de ces derniers auteurs avec Brooks au sujet de l'intervention du facteur oxygène dans l'altération du complément par l'agitation ; nous n'avons pas d'opinion formelle à ce sujet ; dans la conservation du sang, le vide ne nous a pas semblé produire de meilleurs effets sur la protection du pouvoir complémentaire latent, le fait d'employer des ampoules de 250 cc. remplies par le vide n'a pas amélioré d'une façon considérable notre méthode de conservation ; dans des tubes à fermeture moins hermétique.

les résultats sont aussi satisfaisants. E. Ecker, L. Pillemer, Ew. Martiensen et D. Wertheimer (1938) rapportent l'inactivation par certains corps chimiques à un phénomène d'oxydation. Par exemple, à faibles concentrations, divers oxydants tels que I^2 , H^2O^2 , Cu^2O , C^6H^5HgCl , peuvent produire des inactivations réversibles ; en effet si l'oxydation n'a pas été excessive, la réactivation par différents agents réducteurs (H^2S , KCN , $S^2O^3Na^2$, acide ascorbique) réussit parfaitement ; du reste Chien-Chien Young (1938) prétend que l'hyposulfite de soude exerce une action inhibitrice immédiate mais conserve l'activité complémentaire latente plus longtemps que les solutions chlorurées sodiques parce qu'il protège le sérum contre l'oxydation.

c) ANHYDRIDE CARBONIQUE.

Comme nous l'avons signalé, sur un sérum dilué et hypotonique, un courant de CO^2 produit un fractionnement en *midstück* en *endstück*, le *midstück* se fixant sur le précipité globuline. L'action du gaz carbonique sur le sérum non dilué aboutit à des résultats tout différents. Le CO^2 sous forte pression inhibe l'action alexique immédiate mais conserve le pouvoir complémentaire latent. On n'est point d'accord sur les effets qui résultent d'un léger accroissement de la tension de CO^2 ; pour Fuchs et Hota, il y aurait une légère augmentation de l'action alexique tandis que Bernstein prétend le contraire ; par contre une action prolongée du CO^2 à plus forte pression gêne les manifestations du pouvoir alexique, mais cette inhibition dure autant que l'on maintient la tension de l'anhydride carbonique, dès que l'on relâche ce gaz, on constate la réapparition de l'action alexique (Fuchs, Sawtchenko, Bauer, Osborn). Le mécanisme de cette inactivation réversible paraît lié à l'intervention de facteurs s'opposant à l'action de l'*endstück*, alors que le *midstück* peut être encore fixé sous pression de CO^2 ; en effet, des hématies sensibilisées, qui ont été mélangées à du sérum frais sous pression de CO^2 et qui ont été séparées ensuite par centrifugation, sont susceptibles d'être hémolysées par l'addition d'*endstück* seul.

Cependant, le gaz carbonique, en empêchant l'action alexique de se manifester, protège la stabilité du complexe complémentaire. Cette dernière propriété a été utilisée par Valley et Mac Alpine qui ont mis au point une excellente méthode de conservation de l'alexine sous pression de CO^2 ; leur technique est particulièrement

préconisée par Osborn qui dit avoir obtenu des taux complémentaires encore très convenables après un mois de conservation.

d) SELS.

Parmi les différents sels dont on a étudié les effets sur la propriété complémentaire, les uns se sont révélés indispensables à la production du phénomène lytique, d'autres ont montré une action inhibitrice plus ou moins marquée allant même dans certains cas jusqu'à la destruction irréversible ; certains ont permis de constituer d'excellents milieux de conservation ; enfin il existe des sels qui selon leur degré de concentration peuvent représenter successivement des facteurs d'inactivation, d'inhibition et de conservation. Nous savons qu'une pression osmotique convenable est indispensable aux manifestations de l'activité complémentaire ; cependant l'isotonie est une condition nécessaire mais non suffisante ; en effet il est impossible d'obtenir une hémolyse dans un milieu isotonique de sucre de canne (7 %) dépourvu de sels minéraux (Sachs et Terruuchi, 1907) ; avec les sels organiques seuls on observe la même inactivité. La production de phénomènes lytiques exige donc non seulement une pression osmotique convenable et l'intervention de certains ions, mais encore la présence d'un sel minéral tel que le chlorure ou le sulfate de sodium. Dans les milieux dépourvus de ces sels, l'absence d'hémolyse résulte d'un manque d'activité de l'endstück, cependant que la fixation du midstück peut encore s'effectuer.

En dehors des solutions hypertoniques qui paralysent l'activité complémentaire sans détruire le complément, certains sels par leur présence seule ont un effet inhibiteur marqué, tel est le cas de quelques sels de baryum, de magnésium, de calcium ou d'ammonium. Par exemple, le chlorure de baryum est très anticomplémentaire ; si on le précipite en sulfate de baryum par l'addition de sulfate de soude, l'action empêchante devient beaucoup plus faible (Von Dungern et Coca). Les solutions isotoniques de chlorure de baryum ne permettent pas l'hémolyse mais n'empêchent pas la fixation du midstück (Von Dungern et Hirschfeld). Le sulfate et le citrate de sodium gênent la production des phénomènes lytiques ; ce fait connu depuis les travaux de Bordet, Gay et Gengou a été plus récemment remis à l'ordre du jour, à propos des hémocultures par Agasse-Lafont, Mutermilch et Grimberg ; ces sels ne détruisent pas l'alexine mais empêchent sa fixation sur les

antigènes sensibilisés, cette action inhibitrice peut être contrebalancée par l'addition de sels solubles de calcium ; le pouvoir inhibiteur du citrate de soude ne se manifeste du reste qu'à partir d'une certaine concentration, 25 à 30 p. mille ; il suffit de diluer le sérum pour récupérer le pouvoir alexique.

Le chlorure de calcium a une action identique, quoiqu'un peu moins prononcée, à celle du chlorure de baryum.

Tous ces effets sont réversibles même après 24 heures d'action (Gordon et Thomson, 1933). Les iodures et les thiocyanates sont particulièrement nocifs, à petite dose ils produisent en deux heures des destructions définitives.

Cependant, à côté des effets inhibiteurs, certains sels ont la propriété de protéger l'alexine contre l'action du vieillissement ; telles sont les solutions hypertoniques de chlorure de sodium (Austin, Thomson, Ronchèse), de fluorure de sodium (Ronchèse), de bromure de sodium (Steeg), les solutions de borate (Ginsberg et Kalinin), d'acétate de soude (Ruffner). Nous reprendrons cette question avec plus de détails dans un chapitre réservé à la conservation de l'alexine.

Nous terminerons ce paragraphe en donnant deux exemples de la variété d'action d'un même sel suivant le degré de sa concentration. 1°) : à défaut d'autre sel minéral, le chlorure de sodium est absolument indispensable à la production du phénomène lytique ; à proportion égale ou légèrement inférieure à l'isotonicité, il montre un maximum d'effet favorisant, tandis qu'à concentration hypertonique il inhibe l'action alexique tout en concervant le pouvoir complémentaire latent. 2°) : P. Cernovodeanu et V. Henri, ajoutant des doses croissantes de chlorure de magnésium à des sérums de lapins, de chiens ou de bœufs, obtiennent une augmentation très nette de l'action alexique pour des concentrations allant de 1/16. 000 à 1/12. 000, tandis qu'à partir de 1/3. 000 commence une inhibition très marquée.

e) SUBSTANCES ORGANIQUES.

La plupart d'entre elles ont été essayées ; nous avons déjà signalé les effets de quelques-unes à propos de la séparation des composants ; d'autres inhibent ou détruisent le complexe complémentaire tout entier ; certaines semblent sans influence sur le comportement des sérums alexiques ; enfin, il y a toute une catégorie de corps organiques dont l'effet inhibiteur est indépendant

d'une action chimique, mais relève d'un phénomène d'ordre purement physique : l'adsorption, qui a été étudiée plus haut.

Comme on peut s'y attendre, toutes les substances qui modifient plus ou moins la structure physico-chimique du sérum représentent des facteurs d'altération ou d'inhibition de la propriété complémentaire ; tels sont les effets de l'alcool éthylique, du formol, de l'éther ou du chloroforme, ces deux derniers corps détruisant spécifiquement le quatrième composant. En outre, ont une action anti-complémentaire l'antiformine, les peptones et albumoses (Lowenstein, Wendelstadst, Wassermann et Citron, Epstein), la tuberculine, la caséine, le carbonate de gwanidine ; la poudre de quartz et la gélatine ont un effet adsorbant assez faible du reste, encore l'action inhibitrice de cette dernière substance est-elle niée par Gordon (1930). Les alcaloïdes et notamment les narcotiques s'opposent à l'activité alexique (Goldsmith et Pribam, Eisler, Traube, Ferrai). L'adrénaline est fortement inhibitrice *in vitro* contrairement à son action *in vivo* (Osborn).

Les anticoagulants organiques gênent l'action complémentaire ; tel est le cas de l'héparine, la germanine (Bayer 205), la novorudine ; cependant, il faut des doses d'héparine ou de germanine beaucoup plus élevées pour inhiber le complément que pour empêcher la coagulation ; à faible dose l'héparine protège la stabilité du complexe complémentaire tout en étant dénuée de pouvoir antialexique immédiat ; cette propriété a été mise en pratique par Grimberg, M^{me} Chamraeff et M^{lle} Pellier dans leur méthode de conservation de sang hépariné ; ils utilisent 1 cc de solution d'héparine à 1 p. 100 par 10 cc de sang.

Par contre, les quantités minima de novorudine suffisantes pour s'opposer à l'action complémentaire sont égales à celles qui sont nécessaires pour arrêter la coagulation (Yanagisawa). Klopatoek (1932) pense que l'héparine et la germanine agissent par modification du point isoélectrique des protéines. Ecker et Gross (1929) réussissent à réactiver le sérum hépariné par l'addition de sérum traité par l'ammoniaque, ils en déduisent que l'héparine épargne le quatrième composant ; la réactivation s'effectue également par l'action du sérum chauffé, ce qui tendrait à prouver que l'héparine ne touche pas davantage les 1^{er} et 2^{me} composants. Fuchs, au contraire, prétend que l'héparine s'attaque au midstük ; Wadsworth, F. Maltaner et E. Maltaner disent que l'héparine agit sur le calcium ionisable et sur certaines céphalines de l'euglobuline ;

de même quelques acides ou bases organiques comme la diéthylamine et le liquoïde (Polynéthosulfonate de sodium) permettent d'obtenir des résultats analogues. P. Paterno et C. d'Arrigo indiquent, en outre, que le polyacétylène dioxysulfonate de soude, anticoagulant employé pour la transfusion, est fortement anticomplémentaire. Il n'est donc pas à utiliser dans les immuno-transfusions. Nous reprendrons ces discussions avec plus de détails dans un chapitre consacré aux relations entre alexine et coagulation. Ajoutons que l'hémoglobine est anticomplémentaire à un certain degré.

Certaines substances colorantes (Klopstock) et en particulier le rouge Congo ont un effet inhibiteur assez prononcé. Gordon, qui a fait une étude très poussée de l'inactivation du complément par le rouge Congo, nous fournit les données suivantes : le rouge Congo paralyse la bactériolyse avec des doses inférieures à celles qui sont nécessaires pour inhiber l'hémolyse ; le complexe antigène-anticorps n'est pas altéré et le colorant paraît fixé de façon très précaire sur le sérum complémentaire ; en effet, un sérum frais contenant une quantité de rouge Congo à peine suffisante pour inactiver son complément est réactivé par l'addition de sérum chauffé à 70°, par des globulines ou des albumines sériques purifiées ou par du charbon ; Gordon suggère donc que le rouge Congo forme un composé entraînant les protéines du sérum et les empêchant de participer à la réaction complémentaire ; c'est par simple adsorption que le charbon ou les protéines sériques ajoutées détruisent cette combinaison instable, fixant le colorant et libèrent ainsi l'activité complémentaire.

Importante est la fonction anticomplémentaire de la bile, des acides ou sels biliaires. L'alexine du sérum de cobaye est presque complètement anihilée en une heure par l'adjonction de 1/10^e de bile. C'est à l'existence de cette propriété qu'Agasse-Lafont, Mutermilch, Grimberg et M^{lle} Pellier rapportent l'action favorable de la bile sur les hémocultures des germes du groupe coli-typhique. Cette inhibition de l'action alexique s'expliquerait par une modification de la tension superficielle sous l'influence des sels biliaires.

Nous rappellerons les facultés inhibitrices plus faibles de quelques lipoïdes comme la lécithine ou la cholestérine ; elles ont eu un certain retentissement dans la sérologie pratique ; de même des graisses neutres comme la tristéarine (Landsteiner et Stankovic), l'huile d'olive et la trioléine (Frouin), la fraction lipoïdique de la pyocyanase (Ohkubo) sont faiblement anticomplémentaires. D.

Wertheimer, L. Pillemer, J. Lawson et E. Ecker indiquent que le pouvoir antialexique des différents lipoïdes varie selon l'échelle suivante : céphaline non oxydée > céphaline oxydée > lécithine non oxydée > lécithine ; on peut donc conclure que les lipoïdes non oxydés ont un pouvoir empêchant plus prononcé que les préparations oxydées ; d'où l'idée qu'ont eue les auteurs de rechercher les effets des substances réductrices sur l'alexine inactivée par les lipoïdes ; ils trouvent que l'acide ascorbique et le radical SH réactivent les sérums traités par les lipoïdes.

Mais à côté de cela, l'acide oléique et ses savons stimulent l'action lytique, sans doute par élimination de facteurs anticomplémentaires, comme le pense Goldie.

Parmi la foule des corps étudiés au point de vue alexique, Gordon trouve un certain nombre de substances qui se comportent d'une façon absolument neutre : nous citerons les alcools butylique, amylique, octylique, l'uréthane. Il existe, en outre, des composés organiques qui maintiennent dans une certaine mesure la stabilité du complexe complémentaire. Silber et Schafran étudiant les effets des : saccharose, maltose, lactose, galactose, sorbite, avaient constaté l'existence d'un phénomène de zone dans l'action protectrice de ces sucres contre l'altération par la chaleur ; autrement dit, cette influence protectrice ne s'observait qu'entre deux concentrations extrêmes avec une concentration optimum. Ce fait paraissait d'une interprétation difficile ; Mutsaars (1936) nous apporta une explication satisfaisante, il montra que les auteurs russes n'avaient pas tenu compte d'un facteur secondaire, mais cependant d'une certaine importance : la concentration en sels minéraux ; en réalité, ce phénomène de pseudo-zone n'était pas dû seulement à l'action du sucre, mais aussi à la dilution du sérum en eau distillée, car Silber et Schafran avaient employé une solution de saccharose en eau distillée, et Mutsaars décompose très logiquement les trois phases du phénomène : au-dessous d'une concentration de 0,25 %, la quantité de sucre est insuffisante, il n'y a pas d'action protectrice ; ensuite, la quantité de saccharose croissant, l'action protectrice apparaît et augmente jusqu'à un maximum, mais à ce moment la quantité de solution sucrée est telle que l'eau distillée de la solution intervient en inactivant l'alexine. En effet, répétant cette expérience avec une solution aqueuse de saccharose l'auteur belge obtient des résultats identiques à ceux de Silber et Schafran ; par contre, en utilisant une solution de saccharose en eau

physiologique, il retrouve le même point minimum, mais il n'y a plus ni maximum ni phénomène de zone. Donc, grâce à cette correction, on peut conclure que le saccharose empêche ou atténue l'altération de l'alexine par le chauffage à partir d'une concentration déterminée, mais ne perd pas cette action au delà d'une certaine zone.

Le phénomène étant bien établi, Mutsaers et Robert en cherchent le mécanisme. Le saccharose n'intervient pas en augmentant la viscosité du sérum et en ralentissant ainsi les échanges thermiques ; en effet, si on plonge un tube de sérum alexique dans un autre tube contenant la solution de saccharose, ce second tube étant lui-même placé dans un bain-marie à 65°, l'inactivation s'effectue en 5 minutes ; tandis qu'elle n'a lieu qu'au bout de 20 minutes lorsque le sérum est mélangé à la solution de saccharose dans un même tube plongé directement dans le bain-marie. De plus, le saccharose n'exerce aucune influence protectrice vis-à-vis de l'inactivation réversible de l'alexine par le froid et les auteurs concluent : « Ces constatations sont en faveur de l'opinion de Madsen concernant l'existence de processus d'inactivation différents suivant que l'on opère à température basse ou élevée ».

Le glucose, le maltose, le saccharose ont été préconisés pour la conservation du sang humain ; notre expérience de la question nous permet d'affirmer que ces sucres ne protègent aucunement l'alexine contre les effets du vieillissement, mais paraissent, au contraire, avoir une influence nuisible. Il en est de même de l'acide ascorbique qui exerce une action nettement défavorable en milieu citraté acide (Wurmser), mais qui, par contre, donne des résultats plus encourageants en milieu citraté basique. Contrairement à l'opinion classique, les propriétés réductrices de l'acide ascorbique ne nous semblent pas avoir d'effets sur la conservation du complément.

4°) Facteurs biologiques

a) ACTION DES ENZYMES.

Les extraits pancréatiques inactivent le complément en totalité, ainsi que le midstück ou l'endstück séparément (Michaelis et Skwirsky, 1910 ; Wormall, Whitehead et Gordon, 1925). Il était naturel de supposer que cette action destructrice résultait d'une digestion trypsique des protéines sériques ; mais Grave (1930) rapporte l'existence d'un phénomène de zone au cours de cette inacti-

vation ; quand on augmente la concentration des extraits, à partir d'un certain degré l'inhibition décroît ; on n'observe rien de comparable dans les actions enzymatiques.

De même, l'effet inhibiteur des levures ne relève pas d'un phénomène diastasique, car les levures conservent leurs facultés destructrices après chauffage à 100° ; il est vraisemblable que celles-ci interviennent comme simples agents physiques par leurs propriétés adsorbantes. Telle est l'opinion généralement admise, mais récemment (1929), F. Maignon et J.-P. Thiéry se sont trouvés en contradiction avec les résultats précédents. Ces auteurs observent que la trypsine active (macération de poudre de pancréas) ajoutée à du sérum frais produit dans les trois premières heures une baisse de l'alexine suivie d'un relèvement dépassant le taux initial. La trypsine (suc pancréatique de chien) augmenterait l'alexine sans diminution préalable ; la pepsine, dont l'activité protéolytique s'exerce en milieu acide, n'amène aucune modification. Poussant leurs investigations plus avant, ces auteurs notent qu'un mélange euglobuline-pancréatine exerce une action hémolytique beaucoup plus grande qu'un mélange pancréatine-sérum-albumine ; ils en concluent que l'alexine représente un complexe trypsine-constituant du sérum, ce constituant étant la globuline ou tout au moins un protide attaché à la globuline.

b) SÉRUMS ANTICOMPLÉMENTAIRES.

Certains sérums ont la propriété d'inhiber l'hémolyse biologique ; non seulement ils se révèlent pauvres en alexine dans un système hémolytique normal, mais encore, quand ils sont ajoutés à des sérums connus pour avoir une activité complémentaire convenable, ils empêchent ou gênent la manifestation de cette activité complémentaire. De tels sérums sont dits anticomplémentaires ou antialexiques.

II. — Les diverses manifestations de l'action alexique *in vitro*

1°) La lyse

Parmi les diverses manifestations de l'action complémentaire, la lyse biologique est le phénomène le plus anciennement connu, puisque c'est à lui que l'on doit la découverte de l'alexine.

A la suite de la célèbre expérience de Bordet, il a été établi que les sérums normaux frais et non chauffés ont la propriété de lyser des éléments cellulaires (bactéries, hématies, etc.), à condition que ceux-ci soient sensibilisés. Ces faits ont été exposés dans notre introduction, nous n'y reviendrons pas. Nous rappellerons simplement que la lyse est l'aboutissement de toute une série de facteurs qui doivent intervenir dans un ordre déterminé : le premier élément dont l'antigène doit subir l'action est l'anticorps ou sensibilisatrice, après quoi cet antigène devient vulnérable, mordancé, ou mieux, sensibilisé (Bordet) à l'effet alexique. Parmi les diverses fractions de l'alexine, c'est le *midstück* qui se fixe le premier sur le complexe antigène-anticorps, à ce stade l'antigène est dit persensibilisé, puis il est soumis successivement à l'action des autres composants, quatrième composant, *endstück*, cinquième composant. On obtient ainsi une « hypersensibilisation » (Nathan) et le troisième composant fournit alors la phase ultime : la lyse proprement dite. Si l'on inverse l'ordre des facteurs, en ayant soin de séparer leurs effets particuliers, il est impossible de parvenir à ce résultat. Par contre, si l'on mélange tous les constituants à la fois, la cytolyse se produit, les divers facteurs intervenant chacun en leur temps.

La lyse complémentaire peut atteindre un grand nombre d'antigènes : bactéries, parasites, cellules sanguines en particulier les globules rouges dont la cytolyse est appréciable à l'œil nu grâce à l'hémoglobine.

On connaît encore mal le mécanisme intime qui accompagne l'effet lytique. On a pu suivre certaines modifications morphologiques s'effectuant au cours de la bactériolyse ou de l'hémolyse.

L'étude du phénomène de Pfeiffer, reprise *in vitro* par Bordet, nous renseigne sur les lésions que subissent certaines espèces microbiennes par suite de l'action complémentaire. Les altérations

les plus typiques nous sont données par les vibrions. Si l'on fait intervenir la sensibilisatrice seule (sérum antivibron vieilli ou chauffé), il se produit une simple agglutination des éléments microbiens ; mais si l'on ajoute de l'alexine (sérum frais de cobaye) au mélange précédent, ou si l'on fait intervenir directement un sérum antivibron frais non chauffé et riche en alexine, on assiste à une transformation caractéristique. Le corps microbien se réduit à un, deux ou trois granules sphériques peu réfringents et possédant une très faible affinité pour les colorants usuels. Ces granules, d'abord réunis, finissent par se disloquer en petits éléments isolés. Cette transformation granulaire représente le degré ultime du phénomène bactériolytique. Ce processus n'atteint qu'un certain nombre de germes : les vibrions sont les plus sensibles, les bacilles du groupe typhique se prêtent à des dégradations beaucoup plus lentes et beaucoup moins marquées ; les spirochètes récurrents, certains léptospires, le pyocyanique sont beaucoup moins lysables, de même que les méningocoques ou le bacille de Pfeiffer ; le bacille pesteux est susceptible de présenter un certain degré d'altération morphologique quand il est atténué par le vieillissement. En dehors de ces germes, il existe toute une foule de bactéries qui ne sont pas aptes à la lyse alexique. L'état cellulaire de l'élément microbien régit en partie la production du phénomène lytique : par exemple, une température de 55° tue le vibron cholérique, mais ce dernier conserve sa propriété d'être lysable ; à 60° cette aptitude disparaît ; par conséquent, le chauffage trop prononcé amène des modifications structurales importantes qui protègent le protoplasme microbien contre l'effet lytique. En dehors de ces effets inhibiteurs la température peut avoir une influence marquée sur la bactériolyse : à 0° celle-ci est négligeable, à 37° elle est très favorisée, pour Kikucki la température optimum serait de 44°.

Les microbes meurent-ils après la lyse ? Après simple transformation granulaire, des vibrions ont pu repousser et reprendre leur virulence sur milieux appropriés ; par contre, un contact prolongé de l'alexine exerce une véritable action bactéricide.

A côté des germes visibles dont nous pouvons apprécier directement la lyse grâce au microscope, certains ultravirus sont sensibles à l'action destructive du complément. Gordon (1925) rapporte qu'un immunsérum chauffé ne peut détruire le virus de la vaccine comme le fait un sérum frais ; du reste, l'addition de sérum normal frais, autrement dit l'adjonction d'alexine, restaure cette activité

destructrice. Le fait est confirmé par Douglas et Smith (1930). Il est possible que cette action destructrice soit le résultat d'une microlyse dont nous ne pouvons pas suivre les étapes à cause de la dimension des germes en question.

En parasitologie, sans observer de véritables phénomènes lytiques, on a réussi à mettre en évidence des actions parasitocides se traduisant extérieurement par des modifications morphologiques peu prononcées et dépendant de l'intervention alexique. C'est ainsi que Tubanguï et V.-A. Masilungan ont fait connaître l'existence d'un pouvoir cercaricide dans le sérum frais de cobayes infestés par *Schistosoma japonicum*.

L'étude de l'hémolyse a suscité de nombreuses recherches ; l'hémolyse artificielle que l'on peut provoquer avec l'eau distillée a servi à la plupart de ces travaux, mais elle ne rappelle que de loin la lyse complémentaire. En effet, la constitution du globule rouge semble régie par un équilibre osmotique. Si l'on met les hématies en milieu hypotonique, celles-ci se gonflent, si on les replonge en solution hypertonique elles se rétractent. Quand on dépasse un certain degré d'hypotonicité, le gel se gonfle, le globule se fractionne et l'hémoglobine s'échappe. On dit alors que la suspension globulaire s'est laquée. Or, il n'existe rien de semblable dans l'hémolyse complémentaire ; le stroma d'une hématie sensibilisée qui a été laquée en eau distillée se rétracte encore après cette lyse lorsqu'on la plonge dans un milieu hypertonique, tandis que les stromas de globules rouges hémolysés par intervention de l'alexine ne réagissent plus à l'addition de solutions salines concentrées. Comme le suppose Bordet, l'alexine paraît altérer l'élément qui dans les stromas globulaires commande l'osmose et la rupture de l'équilibre osmotique normal qui résulte de cette lésion aboutit en définitive à une cytolysé.

RELATIONS ENTRE LES ÉLÉMENTS DU COMPLEXE LYTIQUE.

Relation qualitative. — Entre les différents éléments du complexe lytique, il existe des relations qualitatives et quantitatives qu'il faut connaître, bien qu'elles ne soient pas toujours explicables. Par exemple, l'alexine de cobaye est excellente pour la bactériolyse et pour l'hémolyse, alors que le cheval fournit une alexine hémolytique déplorable et un complément bactériolytique moyen ; de plus, dans un même système hémolytique, les sérums frais provenant d'espèces différentes n'ont pas tous la même activité lytique et réci-

proquement un même sérum frais exerce des effets lytiques plus ou moins marqués selon le système hémolytique dans lequel on le fait intervenir.

Il semble qu'il y ait une certaine appropriation des alexines aux sensibilisatrices : ainsi, l'alexine de cobaye possède son maximum d'activité dans les systèmes anti-mouton, alors que dans les systèmes anti-lapin elle se comporte d'une façon tout à fait médiocre ; autre exemple : des hématies quelconques sensibilisées par un immunsérum de grenouille sont plus sensibles à l'alexine de grenouille qu'à celle de cobaye.

Inversement, une alexine donnée ne manifeste pas une tendance très prononcée à détruire des globules provenant de la même espèce animale. On connaît bien la faiblesse du pouvoir alexique dans les systèmes à compléments homologues ; il faut d'assez fortes doses d'alexine humaine pour hémolyser des hématies humaines en présence d'un sérum anti-humain possédant un taux de sensibilisatrice convenable. Le sérum chauffé d'un cobaye immunisé contre des hématies de lapin détruit celles-ci en présence d'alexine de lapin moins facilement qu'au moyen d'alexine de cobaye. Pour obtenir une hémolyse il faut employer des doses de sensibilisatrices beaucoup plus considérables que d'habitude (Zironi et Nosotti). Ehrlich et Morgenroth expliquent ce fait en prétendant qu'il existe deux sensibilisatrices dans l'immunsérum : l'une, en grande dose, combinable exclusivement à l'alexine de cobaye, l'autre en quantité beaucoup plus faible et qui ne peut s'unir qu'à l'alexine de lapin. Cette hypothèse a été infirmée par l'expérience suivante de Gay : des globules de lapin fortement sensibilisés sont traités tout d'abord par un excès d'alexine de lapin qui les hémolyse ; on les chauffe ensuite à 56° pour éliminer l'excès d'alexine puis on remet les hématies en présence d'alexine de cobaye ; celle-ci n'est nullement absorbée, tandis qu'elle se fixe si les globules sensibilisés n'ont été tout d'abord saturés d'alexine de lapin. Donc, il n'y a pas deux sensibilisatrices distinctes sinon il n'y aurait pas de saturation avec l'alexine de lapin seule et il resterait la sensibilisatrice combinable à l'alexine de cobaye. Capart, sans donner l'explication profonde du phénomène pense que la faiblesse de l'hémolyse dans les réactions avec systèmes à compléments homologues a pour cause une déficience du facteur *endstück* dans son action sur les antigènes persensibilisés. Par contre, Liefmann et Stutzer incriminent la fraction globuline. Il

semblerait assez logique que les hématies d'une espèce animale fussent moins sensibles à l'alexine qui les entoure normalement ; il y aurait là une sorte de protection naturelle. Cependant, dans un sang donné, le plasma est dépourvu de sensibilisatrice contre les hématies de ce même sang ; cette protection est donc inutile. Il n'en demeure pas moins que dans un système lapin anti-mouton le sérum de mouton inhibe à un assez fort degré l'action alexique d'un sérum de cobaye. Cependant, il existe des degrés dans cette insuffisance alexique des systèmes à compléments homologues ; les recherches de Capart ont permis d'établir que les sérums de lapin, de mouton et de cobaye ont une action lytique très faible sur leurs hématies sensibilisées ; mais, dans le sérum humain cette déficience, qui est évidente, est beaucoup moins considérable que dans les cas précédents.

Relations quantitatives. — Lorsqu'on étudie les effets de doses croissantes de sensibilisatrice sur les antigènes correspondants en présence d'une quantité fixe d'alexine, dans certaines limites le pouvoir lytique croît en fonction du degré de sensibilisatrice de l'antigène ; sans qu'il y ait des relations de proportionnalité exacte entre les constituants du complexe lytique, il existe une sorte de suppléance entre alexine et sensibilisatrice (Arrhénius, Noguchi, Bordet, Fabre, Ronchèse). Cependant si l'on dépasse une certaine concentration en anticorps, l'activité lytique se trouve au contraire inhibée. Ce phénomène d'apparence paradoxale fut observé pour la première fois par Neisser et Wechsberg au cours d'expériences sur la bactériolyse de vibrions ; d'où le nom de phénomène de Neisser-Wechsberg. Gay le retrouva quelque temps plus tard dans l'étude de l'hémolyse. Les auteurs allemands donnèrent à leur découverte la signification suivante : quand on ajoute un excès de sensibilisatrice, seule une faible proportion d'ambocepteur se fixe sur l'antigène, la majorité restant libre fixe ou dévie une partie de l'alexine qui ne peut alors plus servir à lyser l'antigène. Cette explication donna naissance à l'expression de « Complement ablenkung », « déviation du complément », on parle aussi quelquefois de « blocage du complément ». Si ces termes sont restés, l'interprétation précédente du phénomène de Neisser-Wechsberg n'est plus admise actuellement. En effet, il est prouvé que l'alexine ne se fixe jamais sur l'anticorps seul.

Par analogie avec les réactions chimiques, on a pensé que le phénomène lytique exigeait l'existence d'une proportion convena-

ble entre les différents facteurs en cause. Cette explication ne saurait nous satisfaire. Pandit estime qu'un excès d'anticorps provoque une dissociation du complexe antigène-anticorps. Un phénomène de zone analogue s'observe du reste dans l'agglutination. Au contraire, Bessemans, Wittebole et O. de Borgiham, étudiant les effets d'immunsérums antileptospire sur leurs germes correspondants, constatent qu'au-dessus d'une certaine concentration d'anticorps les leptospire s'agglutinent violemment en gros amas comme pour se protéger de la lyse, alors qu'on assiste à la transformation granulaire avec de plus fortes dilutions. Thjotta admet la formation, pendant l'immunisation, d'anticorps inhibiteurs spécifiques.

La conception de Gay, reprise plus tard par Fuchs (1930) et par Kowarsyk (1931) nous paraît être plus acceptable : quand on traite un animal en vue d'obtenir un immunsérum, on lui injecte non seulement l'antigène mais encore des traces de protéine qui malgré des lavages répétés restent fixées à cet antigène ; il en résulte que l'immunsérum ainsi préparé contient, en plus de l'anticorps spécifique vis à vis de l'antigène, des précipitines qui réagissent sur les protéines contenues dans le liquide ambiant ; si bien que, lorsqu'il y a un excès d'immunsérum, ces précipitines entrent en jeu en effectuant des précipités qui adsorbent une partie de l'alexine et l'empêchent ainsi d'agir sur l'antigène à lyser. Cette interprétation est particulièrement valable pour l'hémolyse, car malgré de nombreux lavages en eau physiologique et malgré une centrifugation très poussée, la purée d'hématies injectée à l'animal contient toujours des traces de protéines sériques. Un fait est nettement en faveur de l'opinion de Gay. A doses égales d'antigènes et d'anticorps, le phénomène de Neisser-Wechsberg s'observe d'autant moins facilement que l'immunsérum est plus riche en sensibilisatrice ; autrement dit ce n'est pas la quantité d'unités hémolytiques ou bactériolytiques qui détermine le phénomène de Neisser-Wechsberg, mais c'est plutôt à un excès d'immunsérum total (sensibilisatrices + précipitines) que l'on doit cette inhibition paradoxale de la lyse complémentaire.

2°) La fixation de l'alexine

Si la lyse ne représente qu'un des aspects relativement restreint de la manifestation alexique, la fixation du complément constitue le phénomène général applicable à toutes sortes d'antigènes. Ce

vaste chapitre est presque entièrement l'œuvre de Bordet et de ses collaborateurs parmi lesquels Gengou mérite une place particulière ; nous nous excusons d'être obligé de répéter une fois de plus certaines notions devenues maintenant si classiques ; mais nous ne pourrions concevoir une étude de l'action complémentaire, sans rappeler quelques faits essentiels qui ont contribué à établir cette propriété fondamentale qu'est la fixation de l'alexine.

Bordet nous avait appris que seuls les vibrions qui avaient subi l'action de la sensibilisatrice étaient aptes à la lyse en présence d'alexine. Poursuivant ses investigations, il fit toute une série de constatations dont il sut tirer parti avec une ingéniosité et une logique vraiment admirables. En premier lieu, un mélange en proportions convenables de vibrions, de sensibilisatrice et d'alexine aboutit rapidement à la transformation granulaire de ces germes ; si l'on sépare ensuite par centrifugation le mélange précédent, le liquide surnageant recueilli par pipettage reste sans action sur de nouveaux vibrions sensibilisés ; il est logique de supposer que l'alexine a été consommée au cours de la lyse des vibrions dans le premier mélange. On peut obtenir un résultat semblable avec des globules rouges ; lorsqu'une hémolyse a été effectuée avec des éléments distribués en proportions convenables, le liquide résultant de cette réaction laisse intactes de nouvelles hématies sensibilisées, mais, fait plein d'intérêt, ce même liquide est également incapable de lyser des vibrions cholériques en présence de leur sensibilisatrice correspondante. La réciproque est du reste vraie, si on reprend l'expérience précédente en intervertissant l'ordre des facteurs, c'est à dire si dans un premier temps on réunit en proportions convenables vibrions, sérum anti-vibrions et alexine et si l'on ajoute ensuite des hématies sensibilisées, l'hémolyse ne se produit plus. Cependant, cette consommation d'alexine ne se limite pas aux antigènes cellulaires fragiles, elle se produit également avec des germes non lysables comme les bacilles du rouget ou du charbon. Dans ce cas, il est difficile d'employer l'expression de consommation d'alexine, mais il est préférable de parler d'absorption au cours de la première réaction ; c'est le terme qu'emploie Bordet avant d'adopter en définitive celui d'adsorption plus en accord avec l'explication physique qu'il donne du phénomène. Depuis ces premières découvertes, grâce à l'emploi de systèmes hémolytiques (hématies sensibilisées) dans le second temps de la réaction, systèmes qui constituent des réactifs ultra-sensibles et facilement lisibles de

la présence ou de l'absence de l'alexine libre, on a pu mettre en évidence des absorptions d'alexine par une foule de complexes antigène-anticorps. Ces résultats permettent donc d'établir deux notions capitales :

1°) L'alexine qui sert à la bactériolyse ou qui se fixe sur les antigènes non lysables en présence de leurs sensibilisatrices spécifiques n'est pas différente de celle qui intervient dans la production de l'hémolyse. Ce fait est par conséquent contraire aux théories admettant la pluralité des alexines, question qui sera discutée plus loin.

2°) L'alexine a la propriété d'être absorbée, ou autrement dit, fixée sur les antigènes sensibilisés quelle que soit leur nature. C'est là un phénomène absolument général.

La sensibilisatrice est-elle indispensable à la fixation de l'alexine ? Si l'on répète les expériences précédentes avec des antigènes non sensibilisés, l'alexine n'est pas absorbée et l'addition ultérieure d'hématies sensibilisées aboutit à la lyse ; la coopération de la sensibilisatrice est donc indispensable à la fixation de l'alexine. Il convient cependant de modifier légèrement cette affirmation ; en effet, comme nous l'avons signalé, certaines substances telles que la gélatine, le glycogène ou même certains germes comme le *Bacillus prodigiosus* ont la propriété de fixer l'alexine sans intervention d'anticorps ; il s'agit là d'un phénomène purement physique se traduisant du reste par des actions fixatrices beaucoup moins marquées que celles dues aux antigènes sensibilisés. En dehors de la réaction de Wassermann ou de ses dérivés qui paraissent être sous la dépendance de modifications physico-chimiques spéciales du sérum, plus que sous celle de la présence de véritables anticorps, la fixation de l'alexine sur un antigène exige la participation de la sensibilisatrice spécifique correspondante.

La sensibilisatrice seule peut-elle fixer l'alexine ? — En aucun cas il n'a été possible de déceler la moindre adsorption de l'alexine par la sensibilisatrice en l'absence d'antigène.

Fixation de la sensibilisatrice par l'antigène. — Cette fixation a été mise en évidence par Bordet ; mélangé en proportions convenables à une émulsion de vibrions, le sérum anti-cholérique perd sa sensibilisatrice ; séparé par centrifugation et par pipetage le liquide résiduel surnageant ne confère plus à de nouveaux vibrions l'aptitude à se lyser en présence d'alexine.

Ordre d'action des différents éléments intervenant dans la fixation du complément. — Cet ordre est identique à celui qui régit la production de l'hémolyse complémentaire.

Dans un premier temps l'antigène se sensibilise, après quoi il devient apte à fixer l'alexine, la première fraction qui est ainsi absorbée paraît être le *midstück* que suivent les autres composants dans un ordre encore mal déterminé ; seule l'action lytique finale manque dans certains cas par suite de la qualité de l'antigène. Syokiti Ueno (1938) apporte quelques précisions à ce sujet, il indique que les diverses interventions se succèdent de la façon suivante : antigène, sensibilisatrice, chaînon moyen, quatrième composant, *endstück* et en dernier lieu troisième composant. Rioichi Shimonaka (1938) confirme cette opinion. Par contre, Otto G. Bier (1936) prétend que les composants thermostables de l'alexine (troisième et quatrième) s'attachent directement aux hématies sensibilisées et servent de chaînon intermédiaire entre ceux-ci et les composants thermolabiles (premier et deuxième) ; privée de son troisième ou de son quatrième composant, l'alexine ne peut être fixée et cette inhibition serait plus marquée que dans le cas d'une alexine privée des deux premiers composants. Ces résultats sont tout à fait contraires aux données classiques.

Influence de divers facteurs sur la fixation de l'alexine. — Parmi les facteurs physiques, la température joue un rôle important ; alors que la fixation du complément s'opère très facilement à 37°, elle est inhibée aux basses températures ; à 0° elle est pratiquement nulle, mais à cette température l'antigène peut encore fixer la sensibilisatrice (Ehrlich et Morgenroth) ; cette double propriété est utilisée par Sachs et Bauer (1907) pour supprimer les sensibilisatrices naturelles des sérums d'espèces hétérologues sans toucher à leur alexine. Le procédé est repris plus tard par Osborn, ainsi que par Scaffidi et ses collaborateurs.

Quant au pH optimum, Sierakowski et Zablocki le situent au voisinage de 9,5.

La fixation du complément s'effectue faiblement en milieu hypertonique ; le citrate de soude ou le sulfate de baryum ont un effet inhibiteur identique à celui qu'ils exercent sur la lyse ; du reste, dans ce dernier cas l'absence du phénomène lytique n'est que la conséquence d'un défaut de fixation.

Les sérums normaux ont une action antagoniste qui empêche l'alexine de se porter sur les complexes antigènes-anticorps ; en

effet, diluée en sérum physiologique, une alexine se fixe plus facilement que lorsqu'on la mélange dans les mêmes proportions avec un sérum normal inactivé. D'après les travaux de C. Auguste, cette action antagoniste serait sous la dépendance de la fraction précipitable du sérum (Globulines) ; la réaction de Wassermann se montre beaucoup plus sensible et tout aussi spécifique avec des sérums débarrassés de la fraction précipitable par l'acide chlorhydrique.

Complexe antigène-anticorps-alexine. — Ce complexe représente le stade ultime de la fixation du complément. Sa stabilité est très grande ; cependant, parmi les liens qui relient ces trois constituants, celui qui unit l'alexine à l'antigène sensibilisé est le plus fort. Comme l'a observé Muir, les globules ou les germes lysés peuvent perdre par diffusion une partie de leurs sensibilisatrices tout en conservant obstinément l'alexine dont ils sont chargés.

Les antigènes sensibilisés peuvent absorber des quantités d'alexine supérieures à celle qui est nécessaire pour la lyse ; après l'hémolyse les stromas globulaires sensibilisés sont encore capables de fixer le complément, alors que cette aptitude n'existe nullement dans le liquide surnageant ; ce sont donc les stromas seuls qui adsorbent l'alexine et la sensibilisatrice.

Les complexes antigène-anticorps susceptibles de fixer l'alexine sont des plus variés ; ce serait sortir du cadre de cette étude que de vouloir simplement les énumérer. Si les premiers connus se limitèrent à des éléments cellulaires, microbes, globules, on a pu, depuis, obtenir des résultats analogues avec toute une foule de substances (toxines, protéines, etc.) en présence de leurs anticorps correspondants.

Cependant, certains précipités spécifiques peuvent entraîner l'alexine sans la fixer complètement, c'est là un fait intéressant récemment rapporté par Charles Morel (1938) : chez le cobaye traité par un sérum hémolytique de cheval, il se produit une double sensibilisation anaphylactique à l'égard du sérum de cheval et de l'hémolysine isolée et purifiée (Doladilhe). C. Morel constate que le sérum de cobaye ainsi préparé précipite *in vitro* l'hémolysine isolée d'un sérum hémolytique. Ce précipité spécifique contient de l'alexine libre que l'on met en évidence dans la solution obtenue en dispersant le précipité en eau physiologique. L'alexine enlevée

du sérum par la formation du complexe antigène-anticorps n'est donc pas fixée en totalité sur le précipité.

Manière dont se fixe le complément. — A la suite de ses remarquables découvertes, Bordet avait simplement déclaré : « Nous regardons la sensibilisatrice comme se fusionnant avec les globules et les modifiant à tel point qu'ils permettent une absorption directe de l'alexine ». Cette phrase résumait de façon très claire l'action de la sensibilisatrice, mais elle ne nous révélait pas le mécanisme intime par lequel s'effectue la fixation du complément. Ehrlich crut apporter quelques précisions en appliquant à cette réaction sa théorie des récepteurs à chaînes latérales. Pour l'auteur allemand, la sensibilisatrice, appelée ambocepteur ou récepteur de troisième ordre, est reliée, grâce à deux groupes haptophores, d'un côté à l'antigène par le groupe haptophore spécifique, de l'autre au complément par l'intermédiaire d'un groupe haptophore complémentophile. Cette conception, rapportant la fixation du complément à une union de nature chimique, a été vivement critiquée par Bordet et par l'école française ; la théorie d'Ehrlich ne peut en effet résister à ces quelques arguments si démonstratifs : tout d'abord, en l'absence d'antigène, il n'est pas possible de surprendre la moindre affinité de la sensibilisatrice pour l'alexine. Quand on fait passer un mélange sensibilisatrice-alexine à travers bougie Berkefield, la sensibilisatrice filtre alors que le complément est retenu. De plus, comme il a été dit plus haut, des hématies sensibilisées saturées d'alexine conservent après la lyse la totalité de ce complément alors qu'elles peuvent perdre une partie de leur sensibilisatrice ; comment concevoir, dans ce cas, que la sensibilisatrice sert de lien entre complément et antigène ? S'il en était ainsi, l'antigène ne pourrait se séparer de la sensibilisatrice sans entraîner avec lui une partie de l'alexine.

A cette conception, Bordet propose de substituer une explication d'ordre physique : il pense que la fixation de l'alexine est due à un phénomène d'adsorption ; c'est le terme qu'il adopte pour remplacer celui d'absorption employé primitivement.

La sensibilisatrice modifiant les propriétés de contact de l'antigène avec le liquide ambiant ferait apparaître l'affinité d'adsorption vis à vis de l'alexine ; en effet, certaines conditions qui régissent la fixation de l'alexine ne sont pas sans analogie avec les phénomènes qui intéressent l'adsorption de certaines matières comme les colorants. Par exemple, une quantité donnée d'alexine est

capable d'hémolyser beaucoup plus de globules rouges lorsque ceux-ci sont introduits en une seule fois que lorsqu'on les ajoute par fractions, chaque addition étant séparée de la suivante par un intervalle de temps assez long ; dans le premier cas, l'alexine est répartie également sur tous les globules rouges ; dans le second, elle se fixe principalement sur les premières fractions, si bien qu'il n'en reste plus pour lyser les derniers globules. Ce fait rappelle une expérience d'adsorption dont le mécanisme est tout à fait analogue : lorsqu'on immerge une feuille de papier filtre dans une solution de bleu de méthylène, la feuille se colore uniformément ; si on introduit la même quantité de papier par fractions découpées, les premiers fragments sont surcolorés, tandis que les derniers le sont beaucoup moins ou peuvent même rester incolores.

Autre phénomène signalé pour la première fois par Dean et Renaux : la fixation de l'alexine sur les précipités antigène-anticorps spécifiques est d'autant plus active que le précipité est plus ténu à l'état naissant ; lorsqu'il y a de gros flocons, la surface totale d'adsorption est beaucoup moins grande et, toutes proportions égales d'ailleurs, l'alexine se fixe en moindre quantité. C'est là l'explication d'un fait communément observé : les antigènes ajoutés par petites portions successives fixent beaucoup plus d'alexine que lorsqu'on introduit la même dose totale en une seule fois.

Du reste, l'état physique du milieu ambiant n'est pas sans influence sur la fixation du complément. Nous connaissons les effets inhibiteurs des solutions hypertoniques ; de même, le sulfate de baryum ou le citrate de soude jouent un rôle de colloïde protecteur et empêchent l'alexine de se porter sur l'antigène. La qualité physique des antigènes n'est pas sans importance dans la réaction de Bordet-Wassermann.

Kiss (1922) montre que le phénomène de fixation suit la formule d'adsorption de Freundlich avec un coefficient thermique (1,3 entre 10° et 40°). Eagle (1929) affirme qu'un précipité antigène-anticorps spécifique possède une capacité d'adsorption de complément vingt fois plus grande qu'une suspension d'éléments quelconques ayant la même taille microscopique que les éléments du précipité, comme, par exemple, des particules de kaolin, de charbon ou des bactéries telles que le *prodigiosus*. Ceci prouve que la sensibilisatrice modifie profondément les qualités physiques de l'antigène en le rendant beaucoup plus adsorbant. Bordet pense que la sensibilisatrice renforce l'action fixatrice de l'antigène en luttant contre

l'attraction du milieu extérieur ; l'alexine se trouvant au **contact** de cet antigène est ainsi protégée contre l'action dispersante et se porte sur lui beaucoup plus facilement.

Sans qu'il soit possible de porter un jugement définitif sur la valeur de cette séduisante théorie, le moins qu'on puisse dire est qu'elle paraît tout à fait vraisemblable. Cependant, des travaux récents de Félix Haurowitz, de F. Haurowitz et G. Appell, ont montré que l'adsorption de l'alexine sur les précipités se limite à des traces infimes de ce principe. En effet, lorsqu'on fait agir de l'alexine sur des précipités spécifiques, on ne note aucune augmentation de poids du précipité ; cependant, cette fixation est suffisante pour faire disparaître l'activité alexique. Ces auteurs concluent en conséquence que les précipités spécifiques n'englobent qu'une partie infime de l'alexine, mais que cette partie est la plus active. Cependant, si cette partie infime ne produit aucune modification de poids du précipité, elle apporte par contre des modifications physiques suffisantes pour être décelables à l'interférométrie. R. Jonnard effectue parallèlement des réactions de déviation du complément par hémolyse et des lectures interférométriques du complexe antigène-anticorps-alexine et sensibilisatrice anti-hématies, mais sans hématies ; il se met donc dans des conditions de comparaison convenables en tenant compte de ces différents facteurs. La fixation du complément sur un système antigène-anticorps spécifique s'accompagne d'une variation caractéristique de la réfraction du mélange dont le maximum correspond approximativement au début de l'hémolyse dans la réaction de Bordet et Gengou. Jonnard se sert de cette méthode physique pour pratiquer des réactions de déviation du complément.

L'on peut donc adopter la formule de Bordet modifiée : la sensibilisatrice agit sur l'antigène en le modifiant à tel point qu'il permet une adsorption directe de l'alexine ou de sa partie active. Cette adsorption se traduit par une fixation et un blocage de l'alexine libre et par des modifications physiques aboutissant à des changements de réfraction décelables par l'interférométrie.

3°) L'alexine dans la congglutination et dans la propriété auxilytique

La découverte de ces deux propriétés est due aux travaux de Bordet et Gay.

Un sérum frais de bœuf hémolyse des hématies de cobaye ; le même sérum chauffé est incapable de provoquer cette lyse ; mais un mélange sérum chauffé de bœuf sérum frais de cheval a une activité lytique comparable à celle du sérum frais de bœuf. Il serait naturel de conclure que le sérum de bœuf agit comme sensibilisatrice tandis que celui de cheval servirait d'alexine. Or, il n'en est point ainsi, car si l'on soumet des globules de lapin à l'action du sérum chauffé de bœuf et si, après les en avoir retirés, on leur fait subir l'action du sérum frais de cheval il n'y a pas d'hémolyse ; les globules n'ont donc pas été sensibilisés par le sérum frais de bœuf. Pour que le phénomène lytique ait lieu, il faut que le sérum de bœuf soit présent en même temps que le sérum de cheval. En réalité, comme l'ont révélé les recherches de Bordet et Gay, l'action lytique du sérum de cheval existe, mais elle est très faible et le sérum de bœuf agit en renforçant le phénomène hémolytique ; ce dernier sérum contient, d'une part, des matières spéciales, nommées par Bordet *conglutinines*, qui se laissent adsorber par les complexes antigène-anticorps-alexine, cette condensation agglomérant violemment les globules et, d'autre part, des matières auxilytiques qui se fixent de la même façon et qui favorisent l'hémolyse. Pour que ces actions aient lieu, il faut que les hématies soient sensibilisées et touchées par l'alexine ; c'est alors seulement que le sérum de bœuf peut intervenir utilement. L'alexine est donc absolument nécessaire à la production de la congglutination et aux manifestations du pouvoir auxilytique. Une fois effectués, les complexes antigène-sensibilisatrice-alexine résistent à l'action de la chaleur et l'adjonction de sérum de bœuf à ces complexes chauffés aboutit à la lyse massive.

Dans la congglutination, le *midstück* jouerait un rôle prépondérant, tandis que le troisième composant constituerait la fraction participant à l'élaboration du pouvoir auxilytique.

En fait, comme le pense notre maître, le professeur Rousla-croix, les pouvoirs congglutinant et auxilytique du sérum de bœuf chauffé constituent un véritable réactif permettant d'extérioriser la plus faible quantité d'alexine ou une quantité préjugée normale d'alexine de mauvaise qualité (cheval) fixée par un complexe antigène-anticorps.

Pour cette raison, le phénomène mériterait de figurer dans le protocole de certaines réactions de fixation du complément de fai-

ble intensité ou d'interprétation douteuse (syphilis héréditaire, syphilis cardio-vasculaire, tuberculose).

Sans pouvoir expliquer avec précision le mécanisme qui préside à l'intervention de l'alexine dans ces phénomènes, bornons-nous à dire avec Bordet : « C'est quand ils sont chargés d'alexine que les antigènes témoignent pour le protoplasme de l'affinité de contact la plus vive ».

4° Propriété dispersante

R. Douris, Ch. Mondain et Beck (1932), étudiant les relations entre les réactions de floculation et le pouvoir alexique, observent le fait suivant : lorsqu'on met un sérum syphilitique en présence d'un antigène convenable, il se produit une légère opalescence dont on peut suivre les variations au photomètre ; quand on ajoute de l'alexine, la densité optique diminue. Cette action dissolvante est à peu près proportionnelle à la quantité d'alexine introduite. Morel reprend la question avec des hydrosols colloïdaux (résine mastic, colophane, gomme gutte) en milieu isotonique : l'addition du sérum frais non chauffé augmente considérablement le temps de floculation, et d'une façon proportionnelle à sa richesse en alexine. Un sérum vieilli et par conséquent non alexique a un pouvoir défloculant très faible, qu'il soit chauffé ou non. Le pouvoir antifloculant paraît donc diminuer en même temps que le pouvoir alexique. Vernes, de son côté, avait signalé que le sérum de porc frais provoquait une action dispersante sur les floculats de péréthynol ; c'est au cours de cette dispersion que se fixe le complément. Plus récemment, Jonnard (1939-1940) a effectué parallèlement des réactions de déviation du complément par hémolyse et des lectures interférométriques du complexe antigène-anticorps-alexine et sensibilisatrice anti-hématies (sans hématies, bien entendu), ceci pour éliminer les causes d'erreurs dues à ces différents facteurs. La fixation du complément sur un système antigène-anticorps spécifique s'accompagne d'une variation caractéristique de la réfraction du mélange, dont le maximum correspond approximativement au début de l'intervention du système hémolytique dans une réaction de Bordet et Gengou. On pouvait donc conclure que l'action dispersante était due à des manifestations de la propriété complémentaire ; en réalité, comme l'a montré P. Legrand, l'action dispersante paraît liée à une fraction de l'alexine seulement. En effet, si

l'on compare les effets de quelques facteurs sur le pouvoir complémentaire d'une part et sur le pouvoir disperseur de l'autre, on s'aperçoit que les variations de ces deux propriétés ne se font pas toujours parallèlement ; par exemple, si l'augmentation de la concentration en ion H diminue et le pouvoir alexique et le pouvoir disperseur, les modifications du pH vers l'alcalinité augmentent le pouvoir disperseur cependant que le pouvoir complémentaire s'accroît jusqu'au maximum (pH 9,5), puis décroît ensuite ; le chauffage préalable du sérum, qui augmente légèrement le pouvoir disperseur, exerce sur le complément une action dépressive qui à 55° devient destructive ; l'accroissement de la salinité qui exerce une influence favorable sur le pouvoir disperseur exerce au contraire une action inhibitrice sur le pouvoir alexique. L'inactivation d'un sérum par le contact avec un antigène sensibilisé (hématies sensibilisées) ne modifie pas son pouvoir disperseur. On ne peut donc plus attribuer la propriété dispersante au complexe complémentaire en entier, en particulier aux composants thermolabiles ; par contre, l'action défloculante semble liée à l'intervention d'un composant thermostable, mais altérable par le vieillissement. Doladilhe affirme qu'il s'agit du troisième composant : en effet, quand on traite un sérum par du venin de cobra, son pouvoir disperseur se modifie soit dans le sens d'une augmentation, soit dans celui d'une diminution ; la restauration du pouvoir alexique par addition de sérum chauffé contenant ce troisième composant ramène le pouvoir disperseur dans des limites normales. Cependant, ces modifications en sens variables des pouvoirs floculant et disperseur peuvent être le résultat de l'intervention directe du venin de cobra ; ce venin a sans doute d'autres effets que celui de supprimer ce qu'il est convenu d'appeler le troisième composant. Il faut se rappeler, d'autre part, que les réactions de floculation s'effectuent avec des phénomènes de zone, ce qui peut expliquer l'inconstance dans le sens des variations.

L'interprétation de ces faits reste donc assez délicate ; sans être aussi affirmatif que Doladilhe, nous croyons pouvoir dire : « Les composants thermostables, parmi lesquels se trouve le composant cobralabile, rétablissent l'équilibre entre le pouvoir disperseur et le pouvoir floculant, lorsque cet équilibre a été rompu par l'action du venin de cobra ». L'addition de sérums récents, même privés de leurs composants thermolabiles, exerce toujours un effet favorable sur la dispersion des hydrosols colloïdaux, autrement dit,

les composants thermostables s'opposent dans une certaine mesure aux phénomènes de floculation. Un fait nous paraît confirmer l'opinion de Doladilhe : l'action dispersante vis-à-vis des hydrosols colloïdaux, qui représente une propriété générale des sérums récents, est particulièrement marquée dans le cas du sérum de porc ; or, parmi les sérums des différents animaux, c'est celui de porc qui est le plus riche en troisième composant.

Pouvoir lytique, fixation sur les complexes antigènes-anticorps, pouvoirs congelant et auxilytique, action dispersante, telles sont les principales manifestations de l'activité alexique *in vitro* ; on pourrait ajouter les rôles de l'alexine dans l'opsonification et dans la coagulation ou ses relations avec la sédimentation globulaire ; mais les rapports entre le pouvoir complémentaire et les trois derniers phénomènes ne sont pas encore très nettement établis. Parmi les arguments qui permettent d'attribuer à l'alexine ces nouvelles propriétés, certains reposent sur des faits constatables *in vivo*. Leur discussion sera donc traitée ultérieurement dans un chapitre consacré à l'étendue du pouvoir complémentaire.

L'ALEXINE IN VIVO

L'Alexine chez les êtres vivants

1°) Problème de l'existence de la propriété complémentaire dans le règne végétal

Si les remarquables travaux de Noël Bernard, de M^{lle} Frémont et de Joseph Magrou permettent de conclure à une certaine analogie entre les processus de défense humorale des végétaux et les phénomènes qui ont été décrits en immunologie animale, on n'a pas encore pu isoler dans les plantes un principe identique à l'alexine des animaux.

En 1909, Noël Bernard met en évidence l'existence d'un pouvoir fungicide dans les bulbes de certaines orchidées (*Loroglossum hircinum* : Ophrydée). Cette fonction protège normalement les racines tubéreuses et coalescentes de ces plantes contre des champignons eudophytes (*Rhizoctonia repens*) parasites habituels de leurs racines absorbantes. Le pouvoir fungicide, strictement spécifique vis-à-vis de ces champignons parasites, disparaît par chauffage des bulbes à 55°. Savulesco, à son tour, signale la présence de substances lytiques chez les végétaux. Les belles monographies de Carbone et Arnauti (1930), sur l'immunité des plantes et l'excellente revue publiée sur le même sujet par Kenneth S. Chester tout en faisant allusion à la production des phénomènes lytiques n'apportent pas plus de précision quant à l'intervention de la propriété complémentaire dans ces réactions. Au cours de recherches poussées, Thérèse Frémont a pu réaliser une lyse bactérienne avec des extraits de *Vicia sativa* (légumineuse) sur des bactéries de nodosités ; cette action lytique est du reste mise en évidence par la mesure du pouvoir bactéricide (méthode de l'ensemencement en milieu liquide). La bactériolyse est plus marquée chez les plantes infectées que chez celles qui ne présentent pas de nodosités et l'auteur pense en conséquence que cette lyse bactérienne est sous la dépendance d'un anticorps spécifique auquel s'ajoute peut-être l'action

d'un principe lytique analogue à l'alexine, mais il n'a pas été possible d'isoler ce dernier facteur.

Il semble donc, et c'est l'avis du Professeur Magrou qui fait autorité en la matière, qu'il existe dans certaines plantes des anticorps lytiques, comparables aux complexes sensibilisatrice-alexine des animaux et ressemblant de ce fait aux alexines de Buchner, mais jusqu'à présent il n'a été possible de scinder ces anticorps complexes en leurs deux constituants comme on a pu le réaliser chez les animaux.

D'autre part, d'après Magrou et Lominski, certains sucres végétaux sont doués d'un pouvoir anticomplémentaire ; en l'absence de tout antigène spécifique, ils empêchent l'hémolyse d'hématies sensibilisées, par le sérum de cobaye ; opérant sur le *Pelargonium* ces auteurs ont pu constater que cette propriété anticomplémentaire est plus accusée chez les plantes présentant des tumeurs (dues au *Phytomonas tumefaciens*) que chez les plantes saines.

2°) L'alexine dans la série animale

Depuis la découverte qu'en a faite Buchner et l'isolement réalisé par Bordet, l'alexine, d'abord signalée chez certains vertébrés à sang chaud, fut considérée bientôt comme un principe général répandu dans la plupart des espèces zoologiques, même au sein des embranchements inférieurs. C'est ainsi que le sérum d'*Eupagurus prideauxi* (Bernard l'Hermite), crustacé anomoure, détruit les vibrions cholériques ; cette propriété lytique est accentuée par l'addition d'immunsérum chauffé, c'est-à-dire par l'intervention de sensibilisatrices spécifiques. De même, les hématies et les urnes de Siponcles (Géphyriens armés) s'agglutinent et se lysent au contact de sérum de Maïa (araignée de mer), crustacé brachyoure, immunisé contre le liquide cavitair de ce ver (Cantacuzène, 1922). Paillet, qui s'est attaché plus particulièrement à l'étude de l'immunité chez les insectes, a pu réaliser une réaction lytique avec un certain nombre de chenilles de Macrolépidoptères (*Lymantria dispar*, *Euproctis chrysorrhœa*, *Agrotis*). L'injection d'un cocobacille (*B. melodonthea non liquefaciens*) à ces larves provoque l'apparition presque immédiate d'un processus lytique spécial, se traduisant par une transformation granulaire des germes introduits, réaction qui rappelle tout à fait le phénomène de Pfeiffer ; la seule différence est qu'ici l'élaboration des anticorps lytiques est beaucoup plus

rapide, elle s'effectue en quelques heures ; cette bactériolyse paraît être accélérée au-dessus de 25°. Les vertébrés poecilothermes possèdent dans leurs sérums une matière lytique tout à fait comparable à l'alexine des animaux à sang chaud. En effet, la propriété complémentaire existe chez les poissons téléostéens comme l'anguille (Liefmann et Andrew) ou la carpe (M^{me} A. Drihon). Ce dernier auteur a recherché le comportement de l'alexine au cours de changements de milieux aquatiques subis par deux téléostéens, la carpe (*Cyprinus carpio*) et l'anguille (*Anguilla vulgaris*). Mesuré par la méthode de Vlès, le pouvoir complémentaire s'est montré très inférieur au titre alexique humain (environ 10 fois moins important) ; l'adaptation de la carpe à des mélanges d'eau douce et d'eau de mer ferait passer le pouvoir complémentaire de 9,25 à 10,98 ; en réalité, des variations d'une aussi faible amplitude peuvent entrer dans les limites d'erreurs relatives très acceptables. Par contre, l'anguille paraît avoir un pouvoir complémentaire nettement plus élevé en eau douce (p c : 15) qu'en eau de mer (p c : 8,5).

Parmi les batraciens, la grenouille possède une alexine relativement faible, mais encore appréciable, avec laquelle Horowitz-Wlasowa a pu effectuer des réactions de Bordet-Wassermann. Fraenkel et Liefmann ont réussi à séparer les fractions endstück et midstück dans le sérum de grenouille ; enfin, c'est en s'adressant à cet animal si utilisé en expérimentation physiologique que Hyde (1928) a pu mettre en évidence la lyse complémentaire *in vivo*.

L'alexine se rencontre également chez les reptiles (Noguchi, Lazar) ; Horowitz-Wlasowa signale sa présence dans le sérum de tortue ; cette alexine se comporte de façon satisfaisante dans la réaction de Bordet-Wassermann.

Chez tous ces vertébrés à sang froid, la thermolabilité de l'alexine est plus prononcée, les températures d'inactivation se situent entre 40° et 50° ; l'activité lytique se manifeste encore très convenablement à des températures relativement basses ; par exemple, Reiner et Strilich (1929) indiquent que l'alexine de grenouille hémolyse les hématies sensibilisées de mouton aussi bien à 18° qu'à 37°.

Chez les vertébrés homéothermes, la propriété alexique a été étudiée sur une vaste échelle ; il serait impossible de fournir une liste complète des activités complémentaires de tous ces animaux ; celles-ci varient du reste avec les divers systèmes hémolytiques

que l'on peut employer. Dans les systèmes anti-mouton dont l'usage est le plus répandu, les études de Capart, de Bruynoghe, d'Osborn et de Scaffidi auxquelles nous joindrons nos impressions personnelles permettent d'indiquer approximativement l'ordre suivant : l'animal le plus riche est de loin le cobaye ; cette richesse particulière en alexine et sa déficience en sensibilisatrice naturelle anti-mouton ont fait du sérum de cobaye « le réactif biologique alexique » par excellence ; c'est pourquoi, très souvent, lorsqu'on parle d'addition d'alexine au cours d'une réaction sérologique on sous-entend alexine de cobaye.

Viennent ensuite les sérums humains, ainsi que ceux de singes, de chiens et de rats, dont les activités sont sensiblement égales ; puis les compléments de lapins, de porcs, de poulets et de canards ; le pouvoir alexique des sérums de moutons et de chèvres est très bas ; le bœuf, le cheval et le chat fournissent pour ces systèmes un complément à peu près nul.

Si l'on veut fixer par des chiffres les proportions de ces activités diverses, d'après Capart, on obtient : cobaye 32, homme 4, lapin 1, mouton 1 ; Da Costa Cruz et Penna indiquent que pour hémolyser un même volume (non spécifié) d'hématies de mouton, il faut employer 0 cc 005 à 0 cc 02 de sérum de cobaye, 0 cc 04 à 0 cc 08 de sérums humains, de singe ou de chien, 0 cc 15 à 0 cc 20 de sérum de lapin. Personnellement avec notre système hémolytique cheval-anti-mouton dont les proportions ont été fixées conventionnellement, les doses minima hémolytiques que nous avons généralement obtenues sont : pour le sérum de cobaye 0 cc 0098 à 0 cc 0120 ; pour les sérums humains aux environs de 0 cc 15 ; pour les sérums de chien vers 0 cc 12 ; le sérum de poulet hémolyse en général à partir de 0 cc 25 pour les poulets jeunes et de 0 cc 35 pour les poulets vieux ; le sérum de mouton doit être employé à des doses voisines du centimètre cube ; quant au sérum de cheval, il faut ajouter des doses dépassant le centimètre cube pour obtenir des hémolyses incomplètes.

Les résultats sont totalement différents avec d'autres systèmes hémolytiques. Scaffidi et ses collaborateurs qui se sont attachés particulièrement à l'étude de cette question ont montré, par exemple, que, dans un système anti-cheval, le complément de cobaye est deux fois moins actif que celui de lapin, tandis que dans un système anti-lapin l'activité du sérum de cobaye est encore plus

faible ; elle ne représente que le neuvième de celle d'un sérum de bœuf.

Rappelons que l'activité complémentaire d'un sérum est particulièrement basse lorsqu'il s'agit d'hémolyser des hématies appartenant à la même espèce que le sérum alexique ; par contre, le complément d'un sérum donné paraît agir plus efficacement en présence de sensibilisatrice provenant de la même espèce animale.

Malgré toutes ces différences quantitatives très nettes qui tendraient à faire rejeter l'hypothèse de l'unicité alexique, il est un fait fondamental qui permet de grouper toutes les alexines dans une propriété commune : dans une certaine mesure, les alexines les plus diverses sont susceptibles de se substituer les unes aux autres ; c'est ainsi qu'on réactive un sérum humain avec un sérum de cobaye, avec un sérum de lapin ou même avec de l'alexine de grenouille ; bien plus, des fractions de complément séparées provenant d'espèces différentes peuvent se compléter et constituer une alexine mixte ; par exemple, un mélange composé d'andstück de grenouille et de midstück de cobaye possède une activité complémentaire assez élevée, alors que les deux composants séparés n'en ont aucune.

Il est facile de saisir toute la portée de ce phénomène général de substitution d'une espèce à l'autre.

Cependant, pour des raisons encore mystérieuses (auto-fixation, activité complémentaire marquée), il existe une certaine proportion de sérum qui est dénuée de tout pouvoir complémentaire, en l'absence de phénomènes pathologiques. Ces états accomplémentaires normaux nous amènent à traiter un sujet fort intéressant : les races analexiques.

3°) Pouvoir complémentaire et races.

Déficiencia alexique familiale.

Au sein d'une même espèce, il peut exister des différences suivant les races : Moore (1929), le premier, signale l'existence d'une race de cobaye déficiente en complément ; Coca (1920) retrouve le fait et précise que le sérum de ces cobayes est très pauvre en troisième composant ; l'addition de sérum chauffé rétablit un taux d'activité alexique normal pour le cobaye. Ecker (1921) fait des constatations analogues. Au cours de recherches à la station d'agriculture expérimentale de l'Etat de Vermont, Hyde (1923-1924-1925-

1928-1932) a pu avoir entre les mains quatre cobayes pratiquement analexiques (1/100 de la normale) ; suivant la progéniture de ces cobayes, il s'aperçut que ceux-ci appartenaient à une véritable race déficiente en complément, ce caractère étant transmis comme un facteur récessif mendélien.

Le pouvoir alexique de tels cobayes peut être restauré par l'addition de sérum de cobaye normal, frais ou chauffé ; mais, fait plein d'intérêt, cette réactivation peut s'effectuer *in vivo* aussi bien qu'*in vitro*. Quand on transfuse un de ces animaux analexiques avec un sérum ayant un pouvoir complémentaire normal, l'action régénératrice se manifeste immédiatement, tandis qu'elle n'apparaît que 4 à 18 heures après une injection sous-cutanée ou intra-péritonéale ; de toutes façons, l'activité alexique due à cet apport étranger se maintient pendant 3 à 4 jours.

Scartozzi, en pratiquant des dosages de complément systématiquement chez tous les entrants dans un service de clinique chirurgicale, a pu observer des déficiences complémentaires dont certaines avaient un caractère familial ; au 6^{me} Congrès de Microbiologie de Milan (1937), il en rapporte trois cas typiques : dans la première observation, il s'agit de trois sœurs dont deux appartenant au Groupe I et la troisième au Groupe II, le complément fait presque complètement défaut dans les trois sérums ; le second cas concerne deux frères appartenant au Groupe I, l'un présente un pouvoir complémentaire pratiquement nul et l'autre un taux d'activité relativement faible ; enfin, un troisième cas réunit deux frères du Groupe II et une sœur appartenant au Groupe I, le sérum des trois a une activité complémentaire absolument nulle.

L'étude de ces trois observations permet donc de conclure que la pénurie en complément peut revêtir un caractère familial constatable, tout au moins, chez des frères. Scartozzi n'a pu malheureusement étudier les sérums des parents ascendants ou descendants de ces sujets déficients.

4°) Influence du sexe

D'après Gay et Ayer, les mâles fournissent généralement une alexine meilleure et plus constante ; nous n'avons jamais pu faire une telle constatation. Le taux d'activité complémentaire ne semble pas varier d'un sexe à l'autre.

Répartition dans l'organisme

1°) Existence de l'alexine dans le sang *in vivo*

L'accroissement considérable du pouvoir alexique du sérum dans les heures qui suivent l'extraction du sang de l'organisme avait posé le problème de l'existence même de la propriété alexique dans le sang circulant. En effet, c'est un fait bien connu que le titre alexique augmente pendant la coagulation et au cours de l'exsudation du caillot. C'est ainsi que, pour Henderson Smith (1906), dans les réactions hémolytiques, le taux complémentaire maximum atteint après un certain temps est deux à trois fois plus élevé que celui qui est noté au début de la coagulation. D'après ce que nous avons pu observer, ce maximum d'activité a lieu 5 à 7 heures après la prise de sang chez le lapin ; pour le cobaye, le délai optimum est de 3 ou 4 heures après l'extraction ; il en résulte que pour avoir des résultats comparables, les dosages d'alexine doivent être effectués dans ces limites. Cependant, il faut savoir que de telles modifications sont loin d'être constantes dans leur intensité ou même dans le sens des variations ; les travaux de Morrisson (1922) sont édifiants à ce sujet. D'après Gurd l'élévation du titre alexique dans le sérum serait d'autant plus rapide que la température à laquelle s'effectue la coagulation est plus rapprochée de celle de l'organisme. A la suite des observations de Gengou (1901), d'Hermann (1904), l'alexine fut considérée comme une substance se formant *in vitro* par l'exsudation du caillot à l'intérieur duquel sont emprisonnés les leucocytes ; Silberstein, Rapoport et Pistiner rapportent l'augmentation du pouvoir complémentaire à un dédoublement des protéines qui s'effectuerait pendant la coagulation. Quoiqu'il en soit, Wolmann (1913) prétend que le plasma circulant ne contient pas de complément ; isolant entre deux pinces un fragment de vaisseau, il y injecte des hématies sensibilisées et constate que l'hémolyse commence en même temps que la coagulation ; Fuchs (1929) qui assimile l'alexine à la prothrombine signale le fait suivant : quand on prépare un plasma, sans anti-coagulant, mais en ayant soin d'éviter le contact de l'air, procédé qui retarde considérablement la coagulation, le plasma ne commence à hémolyser des hématies qu'au moment où s'amorce cette coagulation ; tandis qu'un plasma provenant de sang oxalaté produit l'hémolyse en une ou deux minutes ; se basant sur ces expériences, il suggère l'existence d'un mé-

canisme empêchant l'activité complémentaire dans le sang circulant, analogue à la combinaison prothrombine-antiprothrombine qui s'oppose à l'activité de la prothrombine et la protège contre des traces de céphaline (thrombokinasé) dans le courant circulatoire.

En réalité, les résultats précédents n'ont pas été constamment vérifiés et, si l'activité alexique semble s'accroître après la coagulation, elle n'en existe pas moins dans le plasma circulant.

Jouan et Staub (1909), recueillant du sang d'oiseaux sous paraffine et séparant le plasma par centrifugation, notent que : 1°) le pouvoir hémolytique naturel vis-à-vis des hématies de mouton est aussi actif que celui du sérum ; 2°) le pouvoir complémentaire est souvent plus fort dans le plasma que dans le sérum ; 3°) quant au pouvoir bactéricide vis-à-vis des vibrions cholériques, il n'y a aucune différence entre le plasma et sérum.

Un sang artériel, recueilli rapidement et immédiatement centrifugé, possède une activité complémentaire comparable à celle du sérum ; quand on prélève du sang sous vaseline, le sérum plasmatique obtenu par centrifugation et coagulation secondaire est beaucoup moins nocif que le sérum sanguin total vis-à-vis de la bactériémie charbonneuse, tandis que cette différence est très peu marquée dans le cas du vibron cholérique ; avec ce dernier germe, qui représente le réactif de l'alexine par excellence, on obtient des résultats identiques, que ce soit au moyen de sérum ou de plasma citraté ou oxalaté.

Du reste, notre expérience personnelle sur la conservation de l'alexine en sang citraté nous a permis d'acquiescer la conviction que le principe alexique existait en l'absence de toute coagulation ; cette conservation s'effectue de façon très satisfaisante pendant un mois et demi, sans qu'on ait besoin de renverser les ampoules pour mélanger le plasma et les éléments figurés. Grimberg, Mme Chamberaef et Mlle Pellier ont fait la même observation avec le sang hépariné. Klopstock, étudiant comparativement des plasmas préparés par des méthodes variées (récipients paraffinés, solutions citratées, hirudine à raison de 1 milligramme par 7 cc 5 de sang) et des sérums, ne trouve aucune différence dans leur activité complémentaire ; cependant, et ce fait est en plein accord avec nos observations personnelles, cet auteur ajoute que le complément d'un plasma est plus résistant que celui d'un sérum à l'action du vieillissement, mais que, par contre, il est plus sensible à l'effet de l'agitation.

Toutefois pour expliquer cet état de choses on a tenté d'incriminer les manipulations comme la centrifugation ou l'intervention des anticoagulants. Les expériences de Delezenne sur le sang des oiseaux, qui se coagule très lentement, permettant ainsi des manipulations moins rapides et partant moins brutales, font admettre que tous se passe comme si l'alexine circulait à l'état libre dans le torrent circulatoire. Du reste, Falloise et Lambotte, utilisant la technique de Frédéricq, c'est-à-dire en faisant sédimenter les éléments cellulaires du sang dans un tronçon de grosse veine isolée entre deux ligatures, préparent un plasma ayant une activité lytique semblable à celle du sérum provenant du même animal. S'il faut encore des preuves de l'existence de l'alexine dans le sang *in vivo*, nous rappellerons que l'injection intra-veineuse d'hématies sensibilisées provoque un choc considérable, s'accompagnant d'hémoglobinurie, témoin d'une hémolyse importante, et de baisse du titre complémentaire, preuve tangible de la dépense alexique au cours de cette lyse.

Grâce à un artifice ingénieux dû à Hyde (1928) la lyse complémentaire *in vivo* a pu être suivie directement par la vue. lorsqu'on injecte des hématies de mouton non sensibilisées dans une patte isolée de grenouille, l'observation de la circulation à travers la membrane interdigitale ne permet pas de noter une diminution du nombre des hématies, mais dès qu'on injecte la sensibilisatrice spécifique les globules disparaissent très rapidement par l'action probable de l'alexine fournie par la grenouille sur des hématies devenues sensibles à son action.

SANG ARTÉRIEL, SANG VEINEUX.

Les travaux d'Auguste Lumière et de Mme Grange ont établi que le sang veineux est plus riche en alexine que ne l'est le sang artériel ; pratiquant des dosages sur du sang provenant de l'artère fémorale et du sang ponctionné dans la saphène, ils notent que le sang veineux est 4,5 fois plus actif. Ces auteurs incriminent la présence de CO_2 dans la circulation de retour qui agirait comme facteur favorable. Osborn (1935) apporte une notion nouvelle qui permet de donner une autre explication : le pouvoir complémentaire est plus élevé dans le sang statique que dans le sang circulant, or dans les veines le sang circule beaucoup moins vite que dans les artères. Il n'y a du reste pas d'opposition formelle entre ces deux conceptions, car le sang statique est plus riche en gaz carbonique que le sang circulant.

2°) Présence de l'alexine dans les divers liquides organiques

Les travaux de Batteli (1904) nous ont appris qu'il existait dans la lymphe un pouvoir complémentaire inférieur à celui du sang ; comme le font remarquer Scartozzi et Nigrisoli, il y a là un fait comparable à cette propriété générale que les anticorps sont trouvés dans la lymphe à des taux beaucoup moins importants que dans le sang. N. Saito (1930), pratiquant sur douze lapins des dosages complémentaires dans le sang, dans la lymphe cholédocienne et dans la lymphe de la patte, trouve les rapports d'activité suivants : 100 - 7,2 - 3,8 ; une injection intra-veineuse d'argent colloïdal à 0,025 % produit en 24 heures une augmentation très marquée s'exprimant par les nombres 129 - 68,8 - 22,6. Cependant, pour T. Shimoaka, le complément lymphatique serait incomplet, il y manquerait l'endstück et le quatrième composant.

D'après Pfaundler et Moro, l'alexine se trouverait dans le lait de femme en quantité très faible, presque inexistante (Moro et Nöggerath). Cette présence serait d'ailleurs très inconstante (Kolf et Nöggerath). Le lait de vache ne semble pas avoir d'activité alexique à l'état normal : Scartozzi signale qu'on ne peut la mettre en évidence qu'au moyen de systèmes hémolytiques spéciaux (système veau-anticobaye) ; par contre, le pouvoir complémentaire serait relativement élevé dans le colostrum (Bauer et Kopf) et au cours des mastites : si bien que Bauer et Sassenhagen font de la présence de l'alexine un test précoce permettant de porter le diagnostic de mastite.

Normalement, le complément manque dans le liquide céphalo-rachidien ; cependant, au cours de méningites, l'alexine peut apparaître quelquefois, soit par suite de l'élaboration *in situ* de ce principe par les leucocytes, hypothèse actuellement peu vraisemblable, soit par l'effet d'une modification de la barrière hémoméningée. Le pouvoir alexique paraît surtout lié à l'augmentation de l'albuminorachie, ce qui n'est pas pour surprendre quand on connaît les relations entre alexine et protéines. Sicard, Foix et Salin avaient déjà signalé le fait. Après eux, A. Ranque (thèse Paris 1911) attire l'attention sur l'existence d'un pouvoir hémolytique global (alexine au sens de Buchner) vis à vis des hématies de lapin, dans le liquide céphalo-rachidien de sujets atteints de pachyméningite pottique. Or, dans ce cas, on note toujours une dissociation albumino-cytologique par albuminose. L'apparition du pouvoir complémentaire dans le liquide céphalo-rachidien au cours des méningites est loin

de constituer un phénomène constant ; à ce sujet, nous empruntons à Scartozzi les renseignements suivants : Weil et Kafka, sur 24 cas de paralysie générale, n'ont décelé le pouvoir complémentaire dans le liquide céphalo-rachidien qu'une seule fois, ils ont pu le mettre en évidence dans un cas de méningite bacillaire ; Wiekowski trouve pour la paralysie générale la même proportion que Weil et Kafka ; Boas et Neve, par contre, relèvent la présence de complément dans 5 cas de méningites aiguës sur un total de 9 et 4 fois sur 36 dans la paralysie générale ; dans de récentes recherches, Pioltri montre que le complément ne traverse la barrière hémoméningée au cours de la paralysie générale que dans les états graves avec syndrome liquidien très prononcé et dans 10 % des cas seulement ; Santangelo, par une méthode très sensible, avait pu déceler des traces d'alexine dans les liquides céphalo-rachidien normaux ou pathologiques ; Pioltri prétend que les systèmes anti-mouton sont tout à fait impropres au dosage de l'alexine dans le liquide céphalo-rachidien ; par contre, les systèmes anti-lapin, anti-cheval, anticobaye et anti-porc seraient beaucoup plus indiqués. Enfin, d'après Okada, le liquide céphalo-rachidien contiendrait toutes les parties de l'alexine sauf le midstück.

Normalement, l'humeur aqueuse de l'œil est dénué de tout pouvoir complémentaire, mais l'apparition de ce pouvoir s'effectue avec la réaction inflammatoire qui suit la ponction (Sweet, Römer, Wesseley, Schneider) ; Ryoichi Shimonaka (1938) rapporte que chez le lapin, le bœuf, le porc et le cheval, l'humeur aqueuse ne possède pas de pouvoir alexique ; les humeurs aqueuses du lapin et du porc contiennent cependant le midstück et le troisième composant, tandis que, chez le bœuf, les éléments de l'alexine se réduisent au midstück. Par contre, dans le liquide de la chambre postérieure de l'œil, chez le lapin, Shimonaka trouve tous les composants du complément, mais le quatrième composant disparaît trois heures après la paracenthèse. Pour l'auteur japonais, cette disparition ne peut être attribuée à l'action de la lumière.

La salive ne contient pas d'alexine.

Le liquide sécrété par les glandes lacrymales est doué de propriétés protectrices vis à vis des germes, grâce à la présence d'une lysine différente de l'alexine que l'on appelle le lysozyme.

Dans les urines, l'alexine n'a jamais pu être mise en évidence.

Le liquide d'œdème de stase, les transudats pleuraux ou péritonéaux sont dépourvus de pouvoir complémentaire, seul le chaînon

terminal peut y être décelé ; les sensibilisatrices, par contre, passent dans les transudats.

Les exsudats sont particulièrement riches en alexine ; ils le sont d'autant plus que les réactions albumino-cytologiques sont plus marquées ; du reste, c'est l'examen en goutte pendante de sérosités péritonéales exsudatrices qui permet la description du phénomène de Pfeiffer et, par là même, la découverte de l'alexine. L'action alexique des exsudats est particulièrement efficace car elle n'est pas gênée par l'effet antagoniste des protéines sériques. La réaction alexique d'un liquide réactionnel dépend de la qualité de l'antigène introduit ; par exemple, l'injection intra-péritonéale de toxines dysentériques, diphthériques ou tétaniques provoque chez le cobaye la formation d'un exsudat très complémentaire, tandis que l'injection témoin de bouillon stérile ne donne aucun résultat (G. et A. Magheru, 1929). Cette apparition d'alexine sous l'influence d'une excitation toxique ou bactérienne joue certainement un rôle de première importance dans la défense de l'organisme ; elle est plus spécialement marquée dans certains tissus comme le péritoine, la plèvre et d'une façon plus générale dans toutes les séreuses ; en effet, il est impossible de réaliser le phénomène de Pfeiffer par injection sous-cutanée de vibrion car l'oedème produit en ce cas, n'a pas un caractère exsudatif très prononcé.

En conclusion, on peut schématiser l'importance relative de la qualité alexique des divers liquides de l'organisme en indiquant l'ordre décroissant suivant : plasma, exsudats (séreux), lymphes, transudats et sécrétions.

Variations physiologiques et expérimentales

La qualité des méthodes de dosage employées, les multiples causes d'altération du pouvoir alexique, permettent d'expliquer l'inconstance parfois déconcertante des résultats concernant ces variations. Ce n'est qu'après avoir eu soi-même quelques déboires, pour n'avoir pas tenu compte de l'existence de certains facteurs paraissant à première vue négligeables, que l'on peut se faire une idée de toutes les difficultés qui se présentent dans une telle étude. En particulier, pour obtenir des chiffres ayant quelque valeur comparative dans le temps, il faut s'entourer de multiples précautions que nous indiquerons au cours d'un chapitre consacré au dosage du complément, mais qui paraissent avoir été ignorées ou volontairement laissées de côté par de nombreux auteurs. Aussi ne peut-on accepter qu'avec une certaine réserve les résultats publiés à ce sujet quand il n'est pas fait mention de la méthode de dosage utilisée pour y parvenir. De plus, tout ce que nous pouvons examiner, en l'état actuel de nos connaissances, ne représente pas autre chose qu'un pouvoir complémentaire global et libre dans un liquide retiré de l'organisme. Bien qu'on ait démontré de façon assez convaincante l'existence du complément dans le torrent circulatoire, rien ne prouve que l'activité alexique s'y manifeste toujours et partout avec la même intensité ; autrement dit, rien ne prouve qu'un titre alexique obtenu par dosage *in vitro* soit obligatoirement le reflet exact de l'activité complémentaire *in vivo* et encore moins celui du pouvoir alexique latent.

Il convient donc de n'attacher d'importance qu'aux variations appréciables *in vitro* ayant une amplitude suffisante pour traduire l'existence de modifications humorales réelles *in vivo*.

POUVOIR COMPLÉMENTAIRE AUX DIVERS AGES.

Le pouvoir complémentaire est inexistant ou très faible au cours de la vie foetale ; Rywosch signale que le sérum d'embryon de poulet est inactif tandis que celui de la poule est assez riche en alexine ; Solling décèle des traces de complément chez le fœtus à partir de la quatorzième semaine ; d'après Friedberger et Gurwitz (1930) le complément est absent pendant la vie foetale du cobaye, bien qu'il y ait parfois des traces de *midstück*, ou d'*endstück*, mais, peu après la naissance, le sérum devient aussi actif que celui de l'adulte. Risinelli a pu mettre en évidence un pouvoir complémen-

taire minime dans des foetus de 4 à 5 mois aussi bien chez le bœuf que chez l'homme.

L'alexine du nouveau-né est très faible ; Pucci et Rizzo la trouvent nettement inférieure à celle du sérum maternel ; pour Solling, cette différence existe mais est beaucoup moins marquée ; Adair confirme cette opinion, cependant il a pu dans quelques cas obtenir chez le nouveau-né un titre supérieur à celui de la mère ; d'autre part, il a réussi à mettre en évidence une substance anti-complémentaire dans un certain nombre de sérum de nouveau-nés. Musselmann affirme que le pouvoir alexique est toujours plus élevé dans le sérum maternel que dans celui du nouveau-né, tandis que Von Graff et Von Zubrzycki prétendent que l'alexine sérique provenant du cordon ombilical est plus résistante que celle du sérum maternel. Nattan-Larier, qui s'est particulièrement intéressé à l'étude du pouvoir complémentaire chez le nouveau-né et a pratiqué de nombreuses recherches en collaboration avec Lépine et May ou avec l'aide de Mlle Grimard et M. Dufour note l'absence du pouvoir alexique dans plus d'un tiers des cas ; ce pouvoir est très faible dans 30 % des sérums examinés et les titres restent assez bas pour le reste du pourcentage ; cette absence ou cette faiblesse n'est pas due à l'existence de substances anti-complémentaires qui n'ont pu être décelées ; les auteurs se demandent si cette déficience alexique ne peut expliquer la faiblesse de la résistance du nouveau-né à certaines infections, malgré la présence d'anticorps maternels qui, eux, traversent le placenta. Enfin, autre conséquence, la réaction de Hecht ne peut être pratiquée avec du sérum de nouveau-nés.

Si l'on est d'accord pour admettre, d'une façon générale la déficience à peu près totale de l'alexine au début de la vie foétale et souvent même chez le nouveau-né, les avis sont plus partagés quant à la date d'apparition de ce principe. Gurwitz indique que chez le cobaye le pouvoir alexique, inexistant dans le sérum du foetus, s'élève à un taux normal quelques heures après la naissance. Pour Solling, au contraire, le titre complémentaire atteindrait des valeurs moyennes dès le 7^{me} mois de la vie intra-utérine. Osborn, opérant sur des rats, arrive à des conclusions différentes de celles de Gurwitz : les rats impubères ont nettement moins de complément que ceux arrivés à maturité sexuelle. Maugeri fixe la date de cette formation d'alexine au 40^{me} jour qui suit la naissance ; il indique un délai analogue pour le porc tandis que chez l'homme

l'élaboration du principe complémentaire s'effectue immédiatement. En conséquence, cet auteur distingue deux catégories d'animaux : ceux à développement précoce du complément et ceux à développement lent ; dans la première catégorie se trouvent l'homme et le cobaye, dans la seconde on peut ranger le rat et le porc. Personnellement, les seules variations en fonction de l'âge que nous ayons pu observer furent mises en évidence sur des poulets : le sérum de jeunes poulets est beaucoup plus riche (H^2 à 0 cc., 25) que celui des coqs adultes (H^2 à 0 cc., 35).

Chez l'homme, il ne nous paraît pas y avoir de différences entre sérums d'enfants, d'adultes ou de vieillards, nous confirmons ainsi les opinions de Moro (1907) et d'Osborn (1937), cependant nous n'avons pas eu l'occasion d'étudier le pouvoir alexique des jeunes enfants (première enfance).

GROSSESSE ET MENSTRUATION.

Les renseignements que nous possédons à ce sujet sont dus à des travaux italiens ; Segre (1927) signale une augmentation de l'alexine pendant la grossesse. Cicchella (1934) rapporte que le titre alexique est relevé pendant la grossesse, spécialement durant les derniers mois, et qu'il retombe à la normale après l'accouchement. Bolaffi fait une constatation analogue tout en ajoutant que cette élévation s'accompagne d'une diminution du rapport albumine globuline ; plus finaliste, il remarque que le taux alexique paraît particulièrement augmenté dans les périodes de la grossesse au cours desquelles les toxicoses sont le plus fréquentes, comme pour prévenir ces accidents ou réparer leurs effets ; car l'éclampsie, par exemple, amène une chute brutale et considérable du complément. Bien qu'il ne s'agisse pas de variations alexiques à proprement parler, il convient de signaler dans ce paragraphe le fait observé par A. Ranque, C. Senez et E. Vayssière : certains sérums de cobayes femelles pleines, sans présenter de pouvoir anticomplémentaire, ont la propriété de provoquer la fixation de l'alexine qu'ils contiennent, ou d'alexine provenant d'autres animaux, sur les antigènes syphilitiques. On devra donc éviter autant que possible d'utiliser des cobayes femelles pleines comme source alexique dans la réaction de Wassermann ; dans le cas où l'on sera dans l'obligation de s'adresser à des animaux en état de gestation, il sera plus prudent de titrer leur alexine en présence de l'antigène.

D'après Segre (1927) le sang serait plus riche en alexine pen-

dant la période menstruelle, peut-être n'y a-t-il là que la conséquence d'une hyperfolliculinémie passagère qui, d'après les recherches de Churg, augmenterait chez la femme l'activité alexique.

EFFETS DE LA DIGESTION.

L'ingestion d'aliments amène généralement une baisse passagère de l'alexine pendant la période digestive ; c'est un fait unanimement constaté ; au cours des dosages que nous avons pratiqués nous avons pu nous convaincre que les sérums prélevés dans l'après-midi étaient moins complémentaires que ceux recueillis le matin. Kolmer, Matsunami et Trist (1919) avaient observé que chez l'animal le sang ponctionné 24 heures après le repas est bien plus actif que celui retiré immédiatement après. Bernstein (1935) effectue des dosages sur 36 étudiants en médecine bien portants, en faisant des prises de sang une heure avant les repas et deux heures après ; en moyenne, les sérums ont montré un titre alexique plus bas pendant les périodes digestives. Il résulte de ces constatations que pour obtenir des mesures du pouvoir complémentaire ayant quelque valeur comparable il est nécessaire de pratiquer des dosages sur des sérums prélevés à jeun.

EXERCICE MUSCULAIRE.

Les effets de l'exercice musculaire dépendent de la durée et de l'intensité de l'effort et surtout de l'état de l'organisme qui le subit. Deutsch et Hermann constatent que le complément diminue à la suite de la fatigue musculaire pour reprendre ensuite son titre normal. Vincent (1918), expérimentant sur le cobaye, montre que, pendant les premières heures, le taux complémentaire ne varie pas mais, dès qu'on arrive à l'exténuation, il se produit une chute brutale pouvant aller jusqu'à la disparition ; Vincent expliquerait ainsi les prédispositions aux états infectieux dus à la fatigue. Par contre, d'autres auteurs, comme Andersen, Friedberger, Callerio, Rutchko (1931), Jokl (1932), prétendent que l'exercice violent n'a aucun effet sur le pouvoir complémentaire. Goldner, Herxheimer et Kost (1930) apportent plus de précisions : une course de 1.000 mètres produit un abaissement du titre alexique encore décelable 48 heures après cet effort. Pour Scartozzi, à la suite d'exercices moyennement fatigants, tels qu'une partie de football, une course de 5.000 mètres ou une marche de 15 kilomètres, le pouvoir complémentaire s'abaisse légèrement, le pouvoir anticomplémentaire augmente sensiblement, tandis que la vitesse de sédimentation

diminue ; en trois heures toutes les valeurs redeviennent normales. Dobrowlny (1930) chez l'animal et Huntermuller chez l'homme révèlent l'importance considérable du terrain dans la production de ces modifications. En effet, d'après les recherches d'Huntermuller des sujets normaux peu entraînés peuvent arriver à l'exténuation complète sans abaissement notable de leur pouvoir alexique et surtout sans variation durable de ce pouvoir ; au contraire, chez les athlètes très entraînés, si un léger effort physique n'amène que des modifications insignifiantes du titre alexique, un exercice violent et prolongé, exigeant une dépense maximum, produit une diminution marquée de ce titre, diminution qui se maintient pendant plusieurs jours. Nous empruntons à Osborn l'intéressante théorie élaborée par Huntermuller à ce sujet : « Chez les animaux normaux il existe une limite à l'effort ; l'un des effets de l'entraînement, pour dépasser ces limites normales, est de produire une diminution de la résistance aux infections ». Effectivement, c'est un fait assez fréquemment observé et assez remarquable que des athlètes bien entraînés sportivement se défendent particulièrement mal contre les infections ou contre les intoxications. Nous nous permettons de rapprocher de ces constatations l'opinion de A. Tzanck qui considère l'alexine comme « une réserve de combustion et de capacité réactionnelle » ; on peut se demander si un entraînement physique intensif n'entraîne pas une adaptation spéciale de l'organisme à utiliser et à entamer dans une certaine mesure la réserve alexique afin de pouvoir dépasser les limites normales de l'effort ; malheureusement, cette hypothèse repose sur des bases expérimentales encore trop fragiles.

ETAT CIRCULATOIRE.

Nous avons déjà signalé que le pouvoir complémentaire était plus élevé dans le sang veineux que dans le sang artériel. Des travaux récents et précis d'Osborn (1935) ont permis d'acquérir une notion nouvelle : le complément du sang statique est plus actif que celui du sang circulant. Si l'on fait une ponction veineuse immédiatement après la pose du garrot et si on prélève à la même veine un second échantillon de sang après 20 minutes de constriction, le sérum provenant du premier prélèvement a un complément hémolytique beaucoup moins actif que celui du sang statique. Ces résultats, obtenus 8 fois sur 9 par Osborn, ont été pleinement confirmés au cours de nos recherches ; nous remarquerons cependant

qu'ils sont en contradiction avec certaines constatations faites au cours d'états pathologiques : comme nous l'avons plusieurs fois observé et comme il a été quelques fois signalé dans la littérature médicale, le taux de l'alexine baisse chaque fois qu'il y a une gêne de la circulation de retour (oedème des membres inférieurs, foie cardiaque, cardiaques décompensés d'une façon générale) ; on peut toutefois se demander si, dans ces cas, l'altération sérologique n'est pas beaucoup plus prononcée que lorsqu'on effectue une simple constriction veineuse qui entraîne d'autre part des facteurs locaux tout à fait spéciaux ; la stase hépatique, en particulier, doit avoir un retentissement considérable, le pouvoir alexique est, en effet, particulièrement lié à l'état fonctionnel du foie. Quoi qu'il en soit, comme le fait remarquer Osborn, ces variations sous la dépendance de l'état circulatoire, sont peut-être responsables dans une certaine mesure de l'inconstance déconcertante des résultats obtenus dans l'étude du complément *in vivo*. Il importe donc de tenir compte de ce nouveau facteur d'erreur et c'est pourquoi nous conseillerons de pratiquer des dosages de pouvoir complémentaire sur des échantillons de sang prélevés aux veines du pli du coude, deux minutes après la pose du garrot.

INFLUENCE DE LA NUTRITION.

Les effets de la nutrition ne paraissent pas très démonstratifs ; pour Hilgers qui a étudié le sérum de 88 cobayes, il existe une relation directe entre la teneur en alexine et l'alimentation : un animal peu nourri a un sérum plus pauvre en complément ; une publication de Horgan rapporte un fait aisément contrôlable : pendant l'hiver, les cobayes, qui ne reçoivent pas de nourriture fraîche, ont un sérum relativement peu actif ; un régime comportant des aliments verts relève le titre alexique ; ces différences, quand elles existent, nous paraissent minimes. Koch et Smith (1924) trouvent un abaissement du pouvoir complémentaire en rapport avec une déficience de l'alimentation, contrairement aux résultats de Zilva (1919) qui n'avait obtenu aucune modification chez des animaux soumis à un jeûne partiel pendant six mois. Pour Osborn (1931), il existe un certain parallélisme entre le titre alexique et l'état général de nutrition : les enfants nourris au sein ont un sérum plus riche en complément que les enfants alimentés artificiellement ; mais, s'il faut en croire G. Colombo, dans les maladies de la nutrition, chez les enfants, le pouvoir complémentaire augmente modérément dans les formes simples, tandis que cette élévation est

encore plus marquée dans les cas graves (athrepsie, dépérissement général) ; on n'observe de diminution que dans la période prémortelle.

COMPLÉMENT ET VITAMINES.

L'importance considérable qu'a prise l'étude des vitamines durant ces dernières années a fait surgir une énorme littérature concernant les rapports entre pouvoir complémentaire et vitamines. Comme pour beaucoup d'autres questions qui touchent à l'alexine, on trouve peu de travaux français effectués à ce sujet et c'est presque exclusivement dans des publications étrangères que nous avons dû puiser nos renseignements bibliographiques.

Vitamine A. — L'étude des variations du pouvoir complémentaire en fonction de la teneur du sang en vitamine A a constitué un des premiers buts de nos recherches personnelles. Grâce à la méthode rigoureuse de dosage de la vitamine A, imaginée par le Professeur A. Chevallier et pratiquée couramment dans son laboratoire, nous avons pu établir la valeur des rapports complément-vitamine A avec plus de précision qu'on ne l'avait fait jusque-là ; c'est pourquoi nous tenons à exprimer ici même toute notre reconnaissance au Professeur Chevallier pour la façon dont il nous a accueilli et dont il a dirigé nos travaux.

Quand on consulte la bibliographie se rapportant à cette question, on se trouve en présence de résultats souvent contradictoires. Cramer et Kingsbury (1924) n'ont pu déceler le moindre abaissement du taux complémentaire chez des rats avitaminés ; l'élaboration des anticorps spécifiques s'effectuait également aussi bien dans ces conditions. Osborn (1931) arrive à des conclusions différentes : chez douze animaux normaux le complément ne s'abaisse au-dessous de la limite minimum empirique que dans deux cas ; au contraire, chez des animaux déficients en vitamine A, il est au-dessous de ce niveau dans 22 cas sur 24 ; la moyenne obtenue chez 81 animaux carencés en vitamine A est nettement inférieure au titre alexique de 55 animaux normaux ; de plus, l'administration d'huile de foie de morue relève le taux complémentaire chez les animaux déficients en vitamine A (Osborn, 1933). Simola et Brunius (1933) ne trouvent, par contre, que des variations insignifiantes ; à la même époque, M.-R. Green (1933) ne constate aucune différence entre un groupe de lapins déficients en vitamine A et un groupe normal.

Cependant, Scartozzi et Auglesio (1938) signalent que l'hyper-
vitaminose A augmente le pouvoir complémentaire. Dans toutes
ces publications, il n'est question que de dosages du pouvoir alexi-
que chez des animaux subissant des régimes variables modifiant,
à des degrés divers, leur teneur en vitamine A, mais cette teneur
n'est pas évaluée en unités précises ; c'est ce que nous avons pu
réaliser grâce à la méthode physique du Professeur Chevallier.

1°) Dans un premier groupe d'expériences, nous avons recher-
ché le pouvoir complémentaire de 8 cobayes appartenant à une
race très déficiente en vitamine A, race découverte fortuitement au
cours de multiples dosages sur des animaux provenant du quar-
tier de la Joliette et entretenue depuis à la Faculté de Pharmacie.
Le titre alexique s'est montré sensiblement normal chez ces co-
bayes (H^3 à 0 cc 010-0 cc 012), alors que chez deux témoins on
retrouve la dose minimum hémolytique moyenne du cobaye sain
(de 0 cc 0099 à 0 cc 011) ; tout au plus peut-on voir une très légère
diminution chez les cobayes pauvres en vitamine A, encore que la
différence soit pratiquement négligeable et entre dans le cadre des
erreurs acceptables. L'administration *per os* de solution huileuse de
vitamine A (Castel-Chabre) ramène en une semaine la teneur en
vitamine A à des valeurs normales sans modifier pour cela le pou-
voir complémentaire.

2°) Dans un deuxième groupe d'expériences, le cheval a une
très mauvaise alexine hémolytique (dose minimum hémolytique
supérieure à 1 cc), la richesse de son sang en vitamine A est égale-
ment très faible, elle est souvent indosable : sur deux chevaux, qui
présentaient initialement des taux respectifs de 0,10 et 0,00 de vita-
mine A, l'ingestion quotidienne « de véritables doses de cheval »
(100 cc) de solution huileuse de vitamine A réussit à relever en 5
jours la teneur en vitamine A jusqu'à 0,30 pour l'un et 0,32 pour
l'autre, mais les titres alexiques restèrent toujours aussi bas H^3 à
1 cc 5, et H^3 à 1 cc 8) ; en continuant l'administration quotidienne
de ces doses de vitamine A, nous arrivâmes rapidement à une
phase d'intolérance se manifestant cliniquement par de la diarrhée,
tandis que la proportion de vitamine A dans le sang baissait nota-
blement (0,22 et 0,24 le 8^{me} jour ; 0,17 et 0,15 au bout de 17 jours).
Le pouvoir alexique demeura tout à fait indifférent à ces variations.
De même, l'élaboration des agglutinines (anti-Melitensis) ne nous a
pas semblé modifiée par ce traitement vitaminique ; en trois injec-
tions d'émulsions de mélitensis, séparées par 4 jours d'intervalle,

nous avons obtenu des sérums agglutinants au 1/1.000, taux que nous atteignons couramment dans ces délais.

3°) Troisième groupe de dosages : 8 poulets saignés devant nous chez un marchand de volaille ont fourni des sérums présentant respectivement les activités alexiques et les richesses en vitamine A suivantes : Poulet 1 : H³ à 0 cc 35, vitamines Σ (traces). Poulet 2 : H³ à 0 cc 30, vitamine A : 0,33. Poulet 3 : H³ à 0 cc 50, vitamine A : 0,21. Poulet 4 : H³ à 0 cc 35, vitamine A : 0,76. Poulet 5 : H³ à 0 cc 25, vitamine A : 0,96. Poulet 6 : H³ à 0 cc 25, vitamine A : 0,53. Poulet 7 : H³ à 0 cc 20, vitamine A : 0,40. Poulet 8 : H³ à 0 cc 10, vitamine A : 1,07.

Les doses hémolytiques paraissent être d'une façon générale en raison inverse de la richesse en vitamine A, autrement dit, les pouvoirs alexiques les plus forts correspondent aux teneurs en vitamine A les plus élevées.

Voulant vérifier ces premiers résultats, nous avons, quinze jours après, pratiqué de nouveaux dosages sur 10 poulets de la même provenance ; les valeurs obtenues ont pleinement confirmé les observations précédentes :

Poulet 1 : H³ à 0 cc 60, vitamine A : Σ. Poulet 2 : H³ à 0 cc 45, vitamine A : 0,40. Poulet 3 : H³ à 0 cc 55, vitamine A : 0,15. Poulet 4 : H³ à 0 cc 45, vitamine A : 0,20. Poulet 5 : H³ à 0 cc 50, vitamine A : 0,18. Poulet 6 : H³ à 0 cc 30, vitamine A : 0,50. Poulet 7 : H³ à 0 cc 35, vitamine A : 0,55. Poulet 8 : H³ à 0 cc 25, vitamine A : 0,70. Poulet 9 : H³ à 0 cc 20, vitamine A : 0,85. Poulet 10 : H³ à 0 cc 20, vitamine A : 0,66.

Le parallélisme entre pouvoir complémentaire et vitamine A est donc dans ce cas assez frappant, mais il convient d'ajouter une remarque : les sérums qui se sont révélés les plus complémentaires comme les plus riches en vitamine A appartenaient à des poulets jeunes, tandis que ceux qui étaient déficients en ces deux principes provenaient d'animaux relativement vieux. Faut-il incriminer, dans ces variations, l'âge ou les différences de nourriture auxquelles sont soumis ces animaux selon la maturité de leur chair ? De toutes façons, s'il existe un certain rapport entre alexine et vitamine A, il ne semble pas qu'il s'agisse d'une relation de cause à effet, car l'administration de vitamine n'entraîne pas de modification du pouvoir alexique ; il n'en reste pas moins curieux que ce parallélisme se soit rencontré uniquement chez les poulets.

4°) Quand on opère sur des lapins, par exemple, il est impossible de vérifier le fait : sur 6 lapins d'âges variés présentant des pouvoirs complémentaires s'exprimant par des doses hémolytiques minima comprises entre 0 cc 22 et 0 cc 30 et une teneur moyenne en vitamine A de 0 cc 54, trois sont soumis à un régime carencé en vitamine A, en 10 jours la teneur moyenne en vitamine A s'abaisse aux environs de 0,20, tandis que le pouvoir complémentaire reste sensiblement le même (très légère diminution moyenne par rapport aux témoins : H³ à 0 cc 29 au lieu de 0 cc 26).

5°) Huit cobayes carencés en vue de provoquer une septicémie éberthienne par inoculation sous-conjonctivale (Procédé de Sédan et Hermann) n'ont pas montré de baisse alexique notoire (H³ à 0,010).

6°) Sur une jeune chienne nous avons pu faire passer le taux de vitamine A de 1,20 à 1,60 sans constater aucun changement du pouvoir alexique (H³ oscillant entre 0 cc 12 et 0 cc 15). Par contre, l'index phagocytaire (méthode de Gaultier) établi au moyen d'une émulsion de staphylocoques à 50.000.000 de germes par centimètre cube s'est élevé de 0,62 à 0,80 ; le pouvoir bactéricide vis-à-vis d'une émulsion de colibacilles ne s'est pas sensiblement modifié.

7°) Cliniquement, nous n'avons mis en évidence qu'une fois une déficience concomitante d'alexine et de vitamine A : il s'agissait d'un jeune homme atteint d'héméralopie, la teneur en vitamine A était de 10 seulement et le pouvoir complémentaire très faible (H³ à 0 cc 60), mais l'affection hépatique (cirrhose hypertrophique avec ictère) qui dominait la scène était largement suffisante pour expliquer la faiblesse du titre alexique.

En conclusion, en dehors de nos constatations sur les poulets, il ne nous a pas été possible d'établir des rapports précis entre pouvoir complémentaire et teneur en vitamine A, les variations du premier élément en fonction du second sont véritablement trop faibles pour mériter une signification quelconque. Le rôle anti-infectieux de la vitamine A doit donc être rapporté à un facteur différent de l'alexine. Les travaux de Cramer et Kingsbury (1924), de Zilva (1919), de Werkmann (1923), ainsi que l'impression tirée de nos recherches personnelles permettent de penser que la vitamine A n'exerce aucune influence sur l'élaboration des anticorps spécifiques (voir nos expériences sur le cheval et sur le lapin). L'index opsonique peut dépendre, dans une certaine mesure, de la richesse en vitamine A (Werkmann et nous-même), encore que cette cons-

tation soit des plus inconstantes (Findlay et Mackenzie), d'après ces auteurs, le pouvoir bactéricide serait diminué dans le sang des animaux déficients en vitamine A ; notre expérience insuffisante ne nous permet pas de formuler une opinion personnelle à ce sujet. Les publications de Werkmann, de Schutz et Zilva (1927), de Simola et Brunius nous enseignent que les animaux déficients en vitamine A succombent plus rapidement à l'injection de micro-organismes pathogènes que les animaux normaux ; en collaboration avec G. Gaude, nous avons pu observer un très léger ralentissement dans l'évolution de l'infection tuberculeuse expérimentale, chez des cobayes riches en vitamine A, mais l'issue fatale n'était retardée que de quelques jours seulement sur les témoins.

Faut-il donc attribuer à l'intervention de phénomènes immunitaires d'ordre cellulaire la défense de l'organisme par la vitamine A, comme le pensent Cramer et Kingsbury (1924) ? Ou doit-on s'adresser à d'autres facteurs bactéricides humoraux tels que le lysozyme qui, d'après Findlay (1925), serait moins actif dans les carences en vitamine A et dont la déficience est considérée par cet auteur comme la cause principale de la xérophtalmie ? De cette conception, on peut rapprocher le fait que Sédan et Hermann ne purent réussir à provoquer une septicémie Eberthienne par inoculation sous-conjonctivale que chez des cobayes soumis au jeûne ; ayant repris ces expériences avec des cobayes normaux et avec des cobayes appartenant à la race « Joliette », il ne nous a pas été permis de trouver une différence dans le comportement de ces deux races ; sans jeûne préalable il n'a jamais été possible d'obtenir la moindre septicémie même avec des doses considérables (800 millions de germes), tandis que chez deux animaux sans nourriture depuis deux jours, appartenant l'un à une race normale, l'autre à la race « Joliette », nous avons réussi à produire une infection rapidement mortelle (30 heures et 36 heures) avec, dans un cas, hémoculture positive à l'Eberth.

La diminution de résistance à l'infection paraissait donc liée plutôt à une déficience totale en aliments qu'à une carence en vitamine A.

Groupes des vitamines B. — Peu de travaux ont été consacrés à cette question. Osborn (1931) ne trouve aucun changement du taux complémentaire chez des rats déficients en vitamine B. Scartozzi et Anglesio rapportent que l'administration de vitamine B augmente les pouvoirs complémentaire et bactéricide.

Par contre, Percorella, en injectant chez des cobayes, par voie sous-cutanée, des doses quotidiennes de 2 milligrammes de vitamine B₂ (Riboflavine) note au bout de 8 jours un abaissement de 50 % du titre alexique parallèlement à une diminution de l'action bactéricide vis-à-vis du colibacille et du staphylocoque, tandis que l'index opsonique ne varie pas.

Nous rapporterons ici même les effets de l'acide nicotinique qui fut longtemps confondu avec la vitamine B ; d'après Percorella, l'acide nicotinique injecté par voie intra-veineuse aux doses quotidiennes de 5, 10 et 15 milligrammes détermine chez les enfants normaux une augmentation du pouvoir complémentaire. Cette élévation est indépendante de la quantité d'acide nicotinique et la même dose produit des augmentations variables selon les sujets. Le titre alexique redevient assez rapidement normal.

Vitamine C. — Alors que la plupart des auteurs s'accordent à reconnaître à l'acide ascorbique une fonction protectrice sur le complément *in vitro* (nous n'avons pu retrouver ce facteur de stabilité), les effets de la vitamine C *in vivo* sont des plus inconstants. Koch et Smith (1924) constatent une légère augmentation du pouvoir complémentaire au cours de scorbut expérimental du cobaye, alors que Zilva (1919) n'avait trouvé aucune modification et que Simola et Brunius signalent un abaissement. Plus récemment, Ardy (1939) ne peut mettre en évidence aucun changement du titre alexique chez des cobayes atteints de scorbut, même à une période très avancée ; l'administration de fortes doses de vitamine C n'entraîne aucune variation. Notre expérience personnelle sur la question se borne à l'étude d'un cas de scorbut typique intéressant un prisonnier de guerre évadé, chez lequel nous avons décelé une très légère augmentation du pouvoir complémentaire ; un traitement par Laroscorbine injectable et Vitascorbol *per os* amena une amélioration rapide de l'affection avec retour à une hématologie normale sans modifier le pouvoir complémentaire qui resta toujours légèrement supérieur au taux moyen (H³ à 0 cc 10). Cependant, d'après Harde et Thomson (1935), il existerait un certain parallélisme entre teneur en vitamine C et complément, l'injection massive d'acide ascorbique augmenterait le titre alexique de façon considérable ; par contre, P. Naccari (1938), en injectant de l'acide ascorbique à des lapins, produit une élévation du pouvoir opsonique, une leucocytose avec polynucléose, mais des variations inconstantes en plus ou en moins du taux complémentaire. Scartozzi et Anglesio

(1938) affirment que l'hypervitaminose C n'entraîne aucune augmentation du pouvoir alexique. Nous exposerons, pour terminer, cette expérience pour le moins curieuse de E. Ecker, L. Pillemer, D. Wertheimer et H. Gradis (1938) : une anesthésie à l'éther de 30 minutes produit une élévation du taux de l'acide ascorbique dans le sang sans influencer l'activité alexique. Au contraire, chez le cobaye qui a été soumis à un régime carentiel en vitamine C, une anesthésie à l'éther relève faiblement la teneur en acide ascorbique (en réalité, l'acide ascorbique se fixe dans les tissus), mais augmente nettement le complément.

L'impression qui se dégage de tous ces renseignements contradictoires est que la vitamine C est pratiquement sans rapport avec le pouvoir complémentaire.

Autres vitamines. — La vitamine D ne paraît pas avoir de retentissement sur le pouvoir alexique, le rachitisme expérimental ne s'accompagne d'aucun changement de ce pouvoir (Smith et Wason).

D'après Anglesio et Scartozzi, l'hypervitaminose E déterminerait une élévation du titre alexique ; l'administration par voie orale de vitamine E augmente légèrement les pouvoirs complémentaire et bactéricide.

A notre connaissance, il n'existe pas d'étude concernant les rapports de la vitamine K et du pouvoir complémentaire ; nous nous proposons d'entreprendre une série d'expériences pour établir ces relations, mais les circonstances actuelles, en particulier la pénurie d'animaux de laboratoire, nous ont empêché de réaliser ce projet. Cette étude présente un grand intérêt, elle permettrait de compléter les belles recherches de Fuchs sur le comportement de l'alexine dans la coagulation.

EFFETS DE LA TEMPÉRATURE.

Le refroidissement expérimental des animaux entraîne, selon les cas, des hausses ou des baisses très faibles du pouvoir complémentaire, de sorte qu'il est impossible d'attribuer une signification quelconque à ces variations (Nägelschmidt, Lissauer, Tromsdorf).

L'hyperthermie peut s'obtenir de façons très variées et il convient de distinguer, selon le mécanisme de production, les hyperthermies passives (bains chauds, séjour en atmosphère surchauffée, diathermie) et les hyperthermies actives (exercices violents, fièvre, médications de choc). Il semble que l'on n'ait pas toujours

tenu compte de l'existence de ces deux catégories dans l'étude des rapports entre alexine et température *in vivo*. Bender et Prausnitz (1910) prétendent que le séjour dans une atmosphère surchauffée, ou des exercices violents à température élevée déterminent chez l'homme aussi bien que chez le lapin une augmentation du titre alexique. Par contre, Vincent et Morel (1935), effectuant des hyperthermies passives sur des cobayes placés dans une étuve, observent à partir de 43° une forte diminution de la résistance aux infections ou aux intoxications parallèlement à une chute du taux complémentaire, qui peut atteindre le douzième de sa valeur normale dans la période prémortelle. Ces auteurs se demandent si ces faits sont dus à un épuisement de la teneur sanguine en complément par suite d'une dépense exagérée ou à l'inhibition, par la chaleur, des organes ou des cellules productrices d'alexine, ou encore à une action concomitante de ces deux facteurs. La diathermie ne nous a pas donné de variations appréciables ; en cela nous confirmons les résultats de Jung et Day (1928) ; en traversant l'organisme d'un cobaye, des ondes hertziennes de 22 mètres peuvent produire une élévation thermique de 2°,5 à 3° sans modifier le pouvoir complémentaire. L'hyperpyrexie active provoquée par l'injection de produits choquants comme le vaccin antistaphylococcique, le Dmelcos, s'accompagne généralement d'une élévation passagère du titre alexique. En clinique, on n'observe pas toujours un parallélisme entre la température et l'activité alexique ; Pierret et Breton trouvent que « chez les tuberculeux fébricitants il n'y a aucun rapport entre l'élévation de la température et la valeur du taux d'alexine du sérum ». Nous-même avons eu l'occasion de suivre longuement l'évolution de deux mélitococcies, nous n'avons pu mettre en évidence que des différences négligeables du pouvoir complémentaire entre les périodes apyrétiques et les périodes fébriles. Ce n'est pourtant pas l'opinion de di Renzo qui prétend que l'hyperthermie est la cause de l'augmentation alexique dans les maladies infectieuses. Dans le shock expérimental il n'y a pas toujours un parallélisme absolu entre l'hypothermie et la chute alexique (Colombo et Zanetti, 1937). En réalité, comme le pense A. Tzanck (observations inédites), il existe une relation certaine entre l'hyperthermie et le pouvoir complémentaire, mais l'hyperthermie n'intervient pas comme facteur causal ; elle paraît être, au contraire, sous la dépendance du terrain et en particulier de sa richesse en alexine. En effet, lorsqu'on entreprend des théra-

peutiques de choc dans les états infectieux (grippe), les sujets qui réagissent le plus violemment avec fièvre et surtout avec frisson sont ceux dont la teneur du sang en complément est élevée ; par contre, les sérums pauvres en alexine proviennent de sujets à capacité réactionnelle restreinte ; chez de tels sujets, il est difficile d'effectuer des réactions de Hecht et, grâce à ce test, Tzanck prévoit le comportement des malades vis-à-vis des thérapeutiques de choc.

Il serait intéressant de faire la part qui revient aux phénomènes purement thermiques dans ces réactions ; l'application de telles médications détermine l'apparition d'un tableau clinique complexe dont l'hyperpyrexie ne représente qu'un des aspects ; l'introduction d'antigènes microbiens (comme le Dmelcos) entraîne des modifications humorales d'une importance certainement suffisante pour retentir sur le pouvoir complémentaire. C'est pourquoi nous nous étions proposé de rechercher sur divers animaux l'intensité des réponses à l'excitation des centres thermo-régulateurs en fonction du pouvoir complémentaire. Considérant le problème d'une autre façon, Ohtsuka, Terao et Sugiu (1928) avaient constaté que la pyrexie résultant de la piqûre du corps strié s'accompagnait d'une élévation du titre alexique. Mais dans l'état actuel de nos connaissances, et c'est l'avis du Professeur Malméjac que nous avons consulté à ce sujet, il est impossible de localiser exactement les centres thermo-régulateurs, de sorte qu'une excitation du corps strié, par exemple, détermine toute une série de bouleversements au milieu desquels sont noyés les phénomènes thermiques.

ACTION DES RADIATIONS.

Leurs effets sont beaucoup moins démonstratifs qu'*in vitro*. Pour Maggeri et Gelli (1927), ainsi que pour Huntermüller (1932), la lumière solaire augmente le pouvoir alexique ; Osborn confirme cette opinion, bien qu'il admette l'inconstance des effets de l'héliothérapie ou des rayons ultra-violets ; par contre, Gordon et Wolmann (1928), Nuzzi (1931) n'ont pu déceler la moindre élévation ; il en est de même de Colebrook, Eidenow et Hill (1924) qui, tout en admettant que la lumière ultra-violette peut accroître le pouvoir bactéricide, ne peuvent prouver que ce fait est dû à une augmentation de l'alexine ; cependant que Trossarelli, soumettant des cobayes à l'action de la lumière de Wood pendant 20 à 30 minutes, provoque une élévation du titre alexique et une diminution de résistance à l'infection staphylococcique. Devant de tels renseignements, il

est impossible de se faire une opinion ! Peut-être n'a-t-on pas toujours tenu compte des doses de rayonnement.

Les rayons infra-rouges auraient un effet stimulant (Huntermuller, 1931).

Dans les longueurs d'ondes plus courtes, les rayons de Röntgen exercent peu d'influence sur le pouvoir complémentaire ; d'après Huntermuller, ils l'augmenteraient ; nous n'avons jamais pu faire une telle constatation lors de notre passage au centre anticancéreux et en cela nous sommes en plein accord avec Merlini (1929) et Heeren (1931). Cependant, dans trois cas de leucémies myéloïdes, dont nous avons pu suivre l'évolution, la radiothérapie a eu chaque fois pour effet de diminuer le pouvoir alexique pour le ramener à des valeurs normales ou même inférieures, dans la période terminale les rayons X ne peuvent relever le titre alexique généralement bas, mais accentuent encore sa chute.

Le radium ne nous a pas paru modifier le pouvoir complémentaire, contrairement à l'avis de Witting, qui signale des élévations à la suite de curiethérapie.

Quant aux ondes hertziennes courtes, elles sont sans effet sur l'activité alexique même lorsqu'elles sont capables de produire une élévation thermique, comme l'a observé Haber avec des ondes de 22 mètres ; au moyen d'ondes de 22 mètres, Abresu n'a pas obtenu plus de résultats, mais d'après cet auteur, ce traitement stimulerait l'élaboration d'hémolysines.

PRESSIION.

Romano a examiné le comportement de cobayes placés dans l'air comprimé à six atmosphères ; au bout de six heures, il est impossible de déceler la moindre diminution du pouvoir complémentaire, celle-ci ne s'observe qu'au 8^{me} jour. Une diminution prolongée de la pression atmosphérique produit l'effet inverse ; chez l'homme, un séjour de quelques semaines en montagne relève le titre alexique de façon notable (Muggia, 1926 ; Azzi, 1926).

MODIFICATIONS DE L'ÉQUILIBRE ACIDE-BASE.

L'activité complémentaire semble régie dans une certaine mesure par le maintien de cet équilibre *in vivo*. Andreesco prétend qu'un sérum anti-complémentaire a une réserve alcaline au-dessous de la normale. L'administration d'acides suffisante pour modifier le pH sanguin diminue le pouvoir alexique (Weiss, Sumegui et Ben-

kovics, 1928) ; l'injection d'acide chlorhydrique est particulièrement active en ce sens (Sherwood), les effets de l'acide lactique sont beaucoup moins nets. Soumettant des rats à des nourritures diverses, végétaux verts pour les uns et avoine pour les autres, Hilgers et Zain (1928) parviennent à modifier la réserve alcaline qui passe en 10 jours à 45 pour le groupe nourri d'avoine et à 57 pour l'autre groupe ; les variations du complément sont aussi marquées dans les deux groupes, elles dépendent donc d'un acteur différent de la réserve alcaline.

Bonanno (1931) a remarqué une diminution du pouvoir alexique chez les cobayes lorsqu'un régime spécial les amène à l'état d'acidose. On peut se demander si, dans de tels états, la mobilisation des graisses et leur dégradation en acétone et acide diacétique n'est pas en partie responsable de l'abaissement du complément. Les travaux de La Gruta permettent de conclure qu'il faut arriver au stade ultime de transformation des lipides pour obtenir une perturbation alexique : le butyrate de soude injecté à doses variables non mortelles ne modifie pas de façon sensible le taux complémentaire ; par contre, l'injection d'acétone ou d'acide diacétique amène constamment une chute alexique. Cet effet est du reste de peu de durée. Il semble donc que la présence de ces produits d'oxydation des lipides soit suffisante pour modifier l'activité complémentaire en dehors même des variations de la réserve alcaline. L'ingestion de bicarbonate de soude, par contre, entraîne une élévation du titre alexique (Michoelis et Skwirsky, 1910) ; l'injection de ce produit au lapin fait augmenter l'alexine dans la proportion de 3 ou 5 à 1, ce fait signalé par Weil et Dufour a été souvent vérifié, bien que sa constance soit mise en doute par Sherwood.

La tendance à l'alcalose paraît donc favoriser l'activité complémentaire, ceci confirme ce qui se passe *in vitro* où le pH optimum se situe aux environs de 8.

EFFETS DE LA SAIGNÉE.

Depuis les travaux de Famulari (1931) et d'Hansson (1931), il est classique de répéter que la saignée est suivie d'un accroissement du taux complémentaire. Ce phénomène avait été étudié en réalité dès 1908 par Lüdke, qui n'avait pu tirer de conclusion formelle. Zuppa avait constaté que, chez le cobaye, le complément diminuait dans les 24 premières heures après la saignée, atteignait ensuite des valeurs supérieures au taux moyen au bout de 48 heures, puis

retournait à la normale vers la 76^{me} heure. Hansson, au cours d'une étude sur le complément des cobayes tuberculisés, avait remarqué que l'activité alexique du témoin que l'on ponctionnait fréquemment augmentait progressivement. Daumas (communication orale) confirme ce fait ; son expérience porte sur de nombreux cas de cobayes dont on prélevait fréquemment le sang pour effectuer des réactions de Wassermann. Siegfried Friedel (1939) prétend que chez le lapin le pH du sang et le pouvoir bactéricide s'élèvent en même temps après la saignée. Par contre, Ecker, Maynard-Rees et Diacono n'ont jamais observé la moindre augmentation du pouvoir complémentaire à la suite de saignées répétées. Personnellement, nous n'avons pu mettre le phénomène en évidence chez l'animal ; par contre, en pathologie humaine, dans deux cas d'hémorragies chirurgicales très abondantes ayant entraîné une forte anémie, nous avons trouvé un titre alexique extrêmement élevé (H³ à 0 cc 08 et à 0 cc 09).

Ces variations, quand elles existent, constituent donc une source d'erreurs dans l'interprétation des résultats de l'expérimentation *in vivo*.

POUVOIR ALEXIQUE ET ÉQUILIBRE VAGO-SYMPATHIQUE.

Alors qu'*in vitro* l'adrénaline présente un pouvoir inhibiteur, son administration *in vivo* exerce un effet stimulant sur la propriété complémentaire (Osborn, 1936). Ceci peut expliquer l'augmentation du pouvoir bactéricide sous l'influence de l'adrénaline. Sweet dès 1903 avait signalé que l'adrénaline provoquait quelquefois un accroissement de l'activité hémolytique mais il avait attribué ce fait à la production d'inflammation au niveau de l'injection. Osborn prétend écarter formellement cette objection : lorsqu'on fait une injection de contrôle avec une solution saline, on n'obtient aucune modification du pouvoir alexique.

Cependant, et c'est là une application particulière d'une loi générale de Pharmacodynamie, des doses trop fortes d'adrénaline aboutissent à des effets inverses, c'est-à-dire à un abaissement du titre alexique ; c'est ainsi que peuvent s'expliquer les résultats de Pinner (1924) ; du reste, Smith (1926) avait remarqué des effets de dose tout à fait analogues dans l'étude des relations entre adrénaline et pouvoir bactéricide.

Si l'injection d'adrénaline élève le titre alexique, l'ablation des surrénales est par contre sans influence sur ce principe, telle est

la conclusion des recherches de Ecker et Rogoff effectuées sur le lapin.

D'après Pinner (1921), l'atropine exercerait une action dépressive. Une série d'expériences plus récentes, dues à Illiniy et Ludany (1938), nous éclaire davantage sur l'intervention du système vago-sympathique dans les variations complémentaires.

L'excitation directe, par courant électrique, du splanchnique détermine chez le chien un accroissement du pouvoir alexique de 12 à 25 %, le maximum est atteint après 20 minutes d'excitation, après quoi les normales se rétablissent en deux heures ; si on paralyse le nerf par la Yohimbine l'excitation reste sans effet. En opérant sur le pneumogastrique on obtient une chute du titre alexique, les valeurs minima étant atteintes après 20 ou 60 minutes d'excitation selon les cas ; l'activité complémentaire redevient normale deux heures après l'interruption du courant électrique ; l'atropine qui paralyse le pneumogastrique supprime les effets de l'excitation de ce nerf sur le pouvoir complémentaire. Dans des recherches plus récentes, les mêmes auteurs ont trouvé des variations parallèles de l'index phagocytaire.

Il semble donc que le sympathique excite la fonction complémentaire, tandis que le vague a au contraire une action dépressive.

ALEXINE ET THYROÏDE.

La thyroïde stimule l'élaboration du pouvoir complémentaire. Cette question sera reprise avec plus de détails dans le chapitre « Origine du complément *in vivo* ».

ACTION DE L'INSULINE.

D'après les recherches de Testa et les travaux de Scartozzi, l'insuline exercerait une action favorisante très nette. Scartozzi constate que sur 28 cobayes traités par l'insuline, 24 ont un pouvoir complémentaire accru ; cette augmentation persiste quelque temps après la cessation des injections d'insuline et disparaît ensuite graduellement, l'auteur remarque en outre que les plaies se cicatrisent beaucoup plus rapidement chez les animaux traités par l'insuline ; de même, l'insuline paraît s'opposer à l'action dépressive qu'entraîne le shock opératoire sur le pouvoir complémentaire.

HORMONES SEXUELLES.

Leur étude est due à Churg : chez des lapines l'injection intraveineuse de Prolan pendant 4 jours provoque une diminution du

taux complémentaire ; celui-ci ne redevient normal que plusieurs semaines après la fin des injections. Les variations sont plus marquées si l'on introduit l'hormone par voie intra-veineuse ou si l'on pratique la castration des ovaires ou l'ablation de l'utérus. Ces variations sous l'influence du Prolan ne se produisent pas chez le mâle.

La folliculine, administrée en quantité convenable, augmente l'activité complémentaire, tandis qu'à doses trop fortes elle amène une diminution après une augmentation passagère. Nous avons déjà rapproché ces faits des variations de l'alexine observées par Segre au cours de la menstruation.

EFFET DES ANESTHÉSQUES.

L'anesthésie n'entraîne pas de modifications bien appréciables, telle est l'opinion de de Antoni et de Scartozzi ; par contre, pour Pozzi, l'administration d'éther et de chloroforme amène une chute du pouvoir complémentaire qu'on peut expliquer soit par une diminution du rapport sérum-globuline avec hypercholestérinémie marquée surtout dans le cas du chloroforme (Benso), soit par une tendance à l'acidose (Carmona). Cette action inhibitrice est du reste très peu accentuée dans le cas de l'éther ; le chlorure d'éthyle n'exerce aucune influence (de Antoni) ; les effets des autres narcotiques (uréthanes, chloralose) sont des plus inconstants (Colombó et Zanetti). Les anesthésiques de base introduits par voie intra-veineuse sont pratiquement sans action (Scartozzi) ; il en est de même des raché-anesthésies et des anesthésies locales.

EFFETS DE QUELQUES SUBSTANCES MÉDICAMENTEUSES.

L'injection de fortes doses d'arsénobenzol chez le lapin anihile pratiquement le pouvoir alexique pendant 24 heures ; chez l'homme syphilitique cette chute alexique serait suivie d'un accroissement au-dessus de la normale (Toyama, Kolmer). Avec le Salvarsan, l'émétique ou l'atoxyl, on provoque au contraire une légère élévation du titre alexique (Ciuca). Il en est de même des sels de mercure (Neuber). D'après Lüdke, Muller, Piller, la Pilocarpine entraîne également une élévation passagère, la Phlorizine agit dans le même sens. L'huile phosphorée, au contraire, atténue le pouvoir alexique (Ehrlich et Morgenroth).

B. Vasile, G. Granozzi et F. Percorella (1937) rapportent que le thallium, inoculé à des doses thérapeutiques chez des enfants, augmente les pouvoirs opsonique et alexique en diminuant la

vitesse de sédimentation des hématies et en laissant invarié le pouvoir bactéricide du sang total ; des épreuves exécutées en ajoutant le thallium *in vitro* excluent une action directe de ce médicament.

SUBSTANCES ORGANIQUES, ANTIGÈNES MICROBIENS.

La caséine, la peptone, introduites par voie parentérale, déterminent une élévation passagère (Nolf, Muller, Busse). L'injection intra-péritonéale de 4 cc d'aleuronate tous les deux jours entraîne au bout de 6 jours une augmentation de la teneur du sérum en complément (Williams et Dougherty). L'abcès de fixation par injection de thérébentine (Nestorescu), l'introduction de nucléinate, relèvent de façon inconstante le pouvoir alexique ; il en est de même des antigènes microbiens, comme nous l'avons observé avec le staphylocoque ou le vaccin antistaphylococcique ou le Dmelcos. Jame et Jude, en injectant à des cobayes des antigènes microbiens, des urines purulentes et des crachats obtiennent au bout de 40 jours une augmentation sensible du titre alexique ; par contre, l'injection de BK ou d'extrait acétonique de ce germe détermine chez le cobaye une anémie avec leucopénie et monocytose s'accompagnant d'une baisse du pouvoir complémentaire auquel on peut attribuer la diminution de la résistance à l'infection chez ces animaux ainsi traités. Il nous est arrivé, assez rarement il est vrai, de ne pouvoir utiliser le sérum de cobaye tuberculisé pour effectuer les réactions de fixation du complément.

ACTION DE QUELQUES SUBSTANCES CONNUES POUR LEUR ACTIVITÉ ANTICOMPLÉMENTAIRE « IN VITRO ».

On retrouve *in vivo* l'action inhibitrice des colloïdes comme l'Agar (Loewit) ; l'injection d'urée chez l'animal amène une diminution du complément (Sherwood), nous avons effectivement constaté une chute du titre alexique chez des malades présentant de fortes azotémies. Parmi les anticoagulants, la novorudine se montre également anticomplémentaire *in vivo* (Lusena, Carlifante), tandis que l'héparine n'exerce aucune influence (Ecker et Gross). (Grimberg, Chamraeff et Mlle Pellier).

L'injection de bile de bœuf atténue sensiblement le pouvoir alexique (Barbieri, 1930).

Variations pathologiques

Ce que nous avons dit à propos des variations physiologiques et expérimentales se justifie encore davantage quand il s'agit d'examiner le comportement du pouvoir complémentaire dans les divers états pathologiques ; bien peu de travaux ont été effectués dans des conditions d'observation convenables. Certains auteurs, biologistes peu expérimentés, ont utilisé des méthodes d'une telle fantaisie qu'ils ont mesuré tout autre chose que l'activité alexique. D'autres n'ont pas tenu compte des conditions de prélèvement, comme la durée de la constriction veineuse par le garrot et l'état digestif du malade, ou du délai qui doit séparer la prise de sang du dosage proprement dit. Enfin, même quand toutes les précautions nécessaires ont été assurées, on parvient souvent à des résultats contradictoires chez des malades présentant cependant les mêmes affections et à des étapes identiques ; telle relation qui avait été établie sur la base de cinq ou six observations consécutives et semblables se trouve brusquement infirmée par l'étude de quelques nouveaux cas aboutissant à des conclusions totalement opposées. Devant l'inconstance de ces impressions individuelles, comment ne pas s'expliquer la diversité des opinions exprimées par différents auteurs au sujet du comportement de l'alexine dans les maladies aiguës ou chroniques ? Sans vouloir détruire tous les espoirs de Wassermann, qui avait fait du titre alexique un test de résistance général vis-à-vis de l'infection, nous devons avouer qu'en dehors de certains cas assez démonstratifs il est difficile de donner aux variations complémentaires une signification toujours très précise. Cinq années d'expériences personnelles, trop fréquemment interrompues par de multiples circonstances, nous ont édifié à ce sujet : on ne saurait être trop prudent dans l'interprétation des dosages de ce que nous croyons être le pouvoir alexique réel.

Malgré toutes ces réserves, il est toutefois permis de dégager quelques conclusions que nous exposerons à la fin de ce chapitre.

L'ALEXINE DANS LES ÉTATS INFECTIEUX AIGUS.

Les variations du pouvoir complémentaire au cours des infections aiguës ne semblent pas liées à des règles générales très précises, mais paraissent plutôt liées à des troubles humoraux particuliers dépendant des lésions produites par le germe ou du terrain

sur lequel elles surviennent. Dans les diverses septicémies que nous avons eu l'occasion d'observer, nous n'avons jamais pu mettre en évidence des modifications assez nettes pour mériter une signification quelconque.

Au cours de deux septicémies à staphylocoques, vérifiées par hémoculture, le titre alexique s'est montré sensiblement normal (H^3 à IX et VII) ; nous n'avons pu examiner le sang de ces malades qu'une fois pendant une période fébrile ; l'un d'eux mourut trois semaines après, l'autre guérit après immuno-transfusion en un mois et demi. Deux abcès chauds à staphylocoques s'accompagnèrent d'élévation du pouvoir alexique (H^3 à V et IV) ; du reste, d'après Scartozzi, cette augmentation se produit également au cours des poussées évolutives d'ostéomyélites aiguës. A côté de cela, nous avons trouvé un pouvoir complémentaire pratiquement nul chez un homme qui présentait, à la phase terminale d'une leucémie myéloïde, après radiothérapie, un impétigo mixte généralisé, sans réaction fébrile, sans leucocytose malgré l'état leucémique antérieur, et avec une formule tendant à la monocytose.

En suivant l'évolution d'une maladie d'Osler, à trois reprises nous avons enregistré une diminution alexique nette (H^3 à X, XII et XII) alors que le pouvoir hémolytique global n'était pas modifié (VI au lieu de VIII).

La septicémie éberthienne n'amène pas de modifications appréciables. Sur 8 fièvres typhoïdes observées, nous n'avons noté que des variations insignifiantes (H^3 à VI, VII, VIII, VII, VI, VI, VIII, VI) donnant une moyenne plutôt élevée ; l'un de nos malades fit une perforation intestinale, du sérum prélevé 36 heures avant la mort ne nous montra aucun changement du titre alexique. Ces observations confirment donc pleinement les conclusions de Milos, Netousek et Joseph Pesek.

La mélitococcie, par contre, paraît déterminer une diminution assez nette (H^3 XII, XV, XII, XIV), ces variations sont indépendantes de la période évolutive, le complément est aussi abaissé pendant les poussées fébriles que pendant les périodes apyrétiques (XII et XII dans un cas, XIV et XV dans un autre). Cet abaissement se maintient assez longtemps (au moins 3 mois dans un cas) pendant la convalescence. Cependant, il convient de n'accepter ces conclusions qu'avec une certaine réserve car elles ne reposent que sur un total de 4 cas.

D'après Meersseman et Perrot, *les infections aiguës des voies respiratoires* (rhino-pharynx, bronchites, pneumonies et broncho-pneumonies) entraînent des variations inconstantes n'obéissant à aucun facteur connu ; en particulier ni l'hyperthermie, ni la gravité de l'affection ne paraissent avoir d'action certaine ; « Tout ce que l'on peut dire c'est que l'élévation du taux alexique paraît plus fréquente que sa diminution ». Dick trouve que dans le cycle de la pneumonie le complément est abaissé avant la crise (1/2 à 1/3 de la normale) et élevé à partir des second et troisième jours après la crise.

La scarlatine s'accompagne généralement d'hypoalexie, telle est la constatation que nous avons pu faire lors de notre passage comme interne au service des contagieux (1936). Cependant, à cette époque, nous n'utilisons pas encore de méthode de dosage très précise ; les résultats étaient obtenus par simple comparaison avec des sérums supposés normaux ; nos observations ne portent que sur 5 cas dans lesquels nous avons relevé 4 diminutions appréciables. Ceci est en plein accord avec les publications italiennes : Inglessi (1932) trouve un abaissement du titre alexique au cours de la scarlatine, abaissement parallèle à la courbe de cholestérinémie ; Sziasmai enregistre des résultats analogues ; plus récemment, Roberto di Mattia (1941), utilisant l'excellente méthode de Scar-tozzi, fait une étude très sérieuse de la question à l'hôpital « Amedeo de Savoia » et arrive à des conclusions identiques. Du reste, comme l'avait montré Gunn, cette diminution peut aller jusqu'à la disparition au cours de scarlatines particulièrement graves avec complications rénales.

Les oreillons, simples ou compliqués de phénomènes méningés ou orchitiques, n'entraînent aucune modification. Cette opinion personnelle est basée sur l'observation de 20 cas examinés en 1936 au service des contagieux de la Conception ; nous n'avons pas trouvé de renseignements bibliographiques à ce sujet.

D'après Inglessi, le pouvoir complémentaire reste inchangé pendant *la diphtérie* ; par contre, celui-ci diminue dans des proportions notables au moment où surviennent les accidents sériques, bien que le pouvoir bactéricide demeure élevé durant cette période (Signa et Gatto).

Thomson prétend que dans la variole la teneur du sérum en complément peut être abaissée, mais qu'elle revient rapidement à la normale lorsqu'il n'y a pas d'infection secondaire.

Le rhumatisme articulaire aigu détermine généralement une baisse appréciable du titre alexique, parallèlement à une augmentation de la vitesse de sédimentation des hématies. C'est ce que nous avons observé 4 fois sur 5. Meerseman et Perrot ont fait des constatations semblables, de même que Rachmilewitz et Silberstein, ou que Schnabell (1933) et Battesini, Robecchi et Silvani, contrairement à Grunke ou à Netousek et Pesek qui trouvent des valeurs normales dans 26 cas sur un total de 30, et à Lipkin qui note des augmentations. Nous pensons que les variations de l'alexine au cours du rhumatisme articulaire ne constituent que des cas particuliers des modifications humorales qu'entraînent les états rhumatismaux en général, puisqu'on les retrouve dans le rhumatisme chronique. Nous confirmons en cela les idées de Veil et Buchholz qui prétendent que toutes les maladies de nature rhumatismale s'accompagneraient d'une chute alexique.

Les accès palustres entraînent une chute très accusée du pouvoir alexique ; nous avons pu vérifier deux fois ce fait qui est signalé par Cathoire, Vincent, Wendlberger, et par Meerseman ; d'après ce dernier auteur, cette hypoalexie pourrait persister un certain temps et serait fonction de la répétition des paroxysmes. Comme nous l'avons constaté chez nos malades, un traitement actif ramène rapidement le titre à la normale. La diminution du pouvoir alexique sous l'influence du paludisme est assez explicable lorsqu'on considère tous les bouleversements humoraux que détermine cette affection, modifications très connues depuis les travaux de Henri ; il est probable qu'au cours de ces réactions, il se produit une fixation *in vivo* du complément sur les floculats mélanine-anticorps, qu'on admette la formation de ces complexes par suite d'une action auto-anticorps-auto-antigène de désagrégation ou qu'on les considère comme le résultat d'un simple changement d'équilibre physico-chimique du plasma.

Les variations du complément *dans la fièvre jaune* ont été particulièrement bien étudiées par Da Costa Cruz (1929-1933), dont les conclusions sont pleinement confirmées par Gomès (1930) : tous les cas montrent une diminution ou absence complète au cours de l'affection, suivie par un retour à des valeurs normales ou sub-normales pendant la convalescence. Les variations sont d'autant plus marquées que l'affection est plus prononcée et Da Costa Cruz fait du titre alexique un test diagnostique et pronostique pour la fièvre jaune. Nous avons classé cette affection parmi les maladies

infectieuses aiguës ; en réalité les variations du pouvoir complémentaire dépendent moins des phénomènes septicémiques provoqués par le virus amaril que des modifications humorales entraînées par le processus hépato-néphrétique qui domine la scène. L'une des conséquences de ces troubles humoraux serait la diminution de la fraction albumine qui amènerait une déficience considérable de l'endstück, tandis que le midstück serait peu touché.

ETATS INFECTIEUX SUBAIGUS OU CHRONIQUES.

Alexine et tuberculose. — Il est peu de sujets qui aient donné lieu à autant de controverses et où les publications soient aussi contradictoires. Les bases expérimentales sont du reste pleines de discordance. Hilgers trouve que chez des cobayes tuberculeux le complément est normal ; cette opinion est confirmée par Hansson ; nous-même avons souvent utilisé des sérums de cobayes tuberculisés pour effectuer des réactions type Bordet-Gengou, le titre alexique ne s'est montré insuffisant que dans un seul cas. Sandström enregistre toujours la même courbe dans les variations complémentaires au cours de la tuberculose expérimentale chez le cobaye : l'inoculation est suivie d'une chute, puis survient une élévation et enfin on note une nouvelle chute dans la période prémortelle. Borsalino considère le problème d'une autre façon, il étudie les répercussions de l'état alexique sur l'évolution de la tuberculose : sur des lapins privés de complément, on peut provoquer par injection intraveineuse de bacilles de Koch une tuberculose généralisée, tandis qu'avec des lapins complémentaires soumis au même traitement, on n'observe que des lésions circonscrites.

Du point de vue clinique, de nombreux auteurs ont trouvé chez les tuberculeux des taux complémentaires aux environs de la normale et cela même dans les formes graves (Lüdke, Keutzler, Brinkmann, Neisser et During, Mandelbaum, Cori et Radnitz). S'il faut en croire Corvini, le pouvoir complémentaire serait légèrement augmenté au début de l'évolution et diminuerait dans les cas graves. Minore prétend que les enfants tuberculeux sont hypoalexiques mais que les rayons ultra-violets améliorent rapidement la valeur du titre complémentaire. Pour Barbiéri, l'abaissement du taux alexique chez les enfants tuberculeux est un fait très instable ; quand il existe, il paraît être en rapport avec l'état de nutrition et l'intensité de la réponse cutanée à l'action de la tuberculine, il confirme en cela les vues de Maggiore. D'après Gelera et

Durand, le pouvoir complémentaire aurait une valeur pronostique et non diagnostique, c'est également l'opinion de Meersseman et Perrot qui écrivent : « Le pouvoir alexique présente des variations assez importantes d'un malade à l'autre ; mais si l'on envisage les variations du pouvoir alexique chez un même malade, au cours de l'évolution de son affection, il semble que ces variations puissent avoir un certain intérêt pronostique, le relèvement du taux alexique marchant de pair avec l'amélioration clinique, tandis que dans les formes graves et évolutives le taux demeure bas ou va en s'abaissant ». Ces résultats n'ont rien de comparable à ceux de Pierret et Breton ; pour ces auteurs, dans les tuberculose médicales l'alexine serait plus élevée que chez les sujets sains, tandis que dans les tuberculoses chirurgicales le pouvoir complémentaire serait abaissé, mais augmenterait de près de 50 % par le repos du sérum à la glacière.

L'étude la plus sérieuse qui ait été effectuée sur le comportement du pouvoir alexique dans la tuberculose pulmonaire est due à Scartozzi et Griva dont l'expérience repose sur l'examen méthodique de 295 malades du sanatorium San Luigi à Turin : leurs conclusions, qui rejoignent celle de Bernstein, sont les suivantes : dans les formes graves évolutives, avec vitesse de sédimentation augmentée, le titre alexique est généralement élevé ; dans très peu de cas on a une chute du pouvoir complémentaire ; les formes de gravité moyenne avec tendance à la stabilisation n'entraînent que rarement une modification du pouvoir alexique ; il y a un certain parallélisme entre pouvoir complémentaire, vitesse de sédimentation et gravité de la maladie ; la détermination du titre alexique au cours de la tuberculose peut donc constituer une épreuve secondaire au même titre que la formule leucocytaire ou la vitesse de sédimentation. « Le pouvoir complémentaire est en général augmenté dans les formes évolutives, c'est un indice de gravité qui a plus qu'une valeur passagère, mais qui témoigne du caractère évolutif général de la maladie ».

Quant aux tuberculoses exclusivement chirurgicales, sans lésions pulmonaires, contrairement aux résultats de Pierret et Breton, dans 14 cas sur 15 Scartozzi rencontre une augmentation du pouvoir complémentaire en même temps qu'une exagération de la vitesse de sédimentation, modifications dont l'importance est parallèle au degré de gravité clinique et d'hyperleucocytose.

Quand il se produit une amélioration (après néphrectomie

pour la tuberculose rénale ou après platrage d'un Pott), le pouvoir alexique tend à se rapprocher de la normale. Scartozzi remarque que ces variations ne sont pas spécifiques de la tuberculose chirurgicale, puisque dans l'ostéomyélite aiguë il existe une élévation du titre alexique, mais dans ce dernier cas c'est la suppuration qui constitue le facteur causal, tandis que dans la tuberculose l'augmentation du pouvoir complémentaire semble plutôt liée au déplacement de l'équilibre protéique signalé par une diminution de l'index albumine globuline.

Lèpre. — Elliasberg a constaté que les sérums des lépreux étaient généralement faibles en complément. Sur trois malades hospitalisés à la Clinique Dermatologique, nous n'avons pas retrouvé ce fait ; il est vrai que nous avons pratiqué nos titrages sur des sujets paraissant stabilisés par le traitement chaumoolgrique.

Syphilis. — D'après Yoshida (1925) le titre alexique serait plus faible chez les syphilitiques que chez les individus normaux ; il s'élèverait rapidement à la suite de Salvarsan. Une telle diminution n'est pas observée par Eicke et Mascher qui prétendent d'autre part que l'alexine provenant de syphilitiques serait beaucoup plus sensible à l'action du vieillissement.

En réalité, le contrôle préalable de la valeur alexique pratiqué au cours des réactions de Hecht ne nous a pas permis d'établir de différences bien nettes entre les sérums positifs et les sérums négatifs. L'instabilité, chez les syphilitiques, des protéines sériques responsables des réactions de floculation en présence d'antigène *in vitro* n'exerce le plus souvent aucune influence sur le pouvoir alexique *in vivo*. Cependant, l'existence de sérums syphilitiques complémentaires peut être rapportée à des phénomènes d'auto-fixation se produisant à certaines périodes évolutives.

Enfin, dans une certaine proportion, assez faible il est vrai, les sérums syphilitiques se révèlent anti-complémentaires ; et c'est pourquoi il est indispensable de pratiquer au cours des réactions de Bordet-Wassermann une épreuve témoin hématies sensibilisées alexine et sérum du malade, en l'absence d'antigène. L'action anti-complémentaire des sérums syphilitiques serait, d'après Doladilhe et P. Legrand, sous la dépendance de modifications spécifiques touchant la protéine visqueuse de ces sérums.

Maladie de Nicolas-Favre. — Midana et de Gaudenzi (1939) rapportent que dans la maladie de Nicolas-Favre la teneur du

sérum en alexine est diminuée, cette diminution n'est pas proportionnelle au degré de sensibilité cutanée allergique. Sur deux malades qui sont passés entre nos mains dernièrement à la Clinique Dermatologique et chez lesquels une réaction de Frei fortement positive accompagnait des symptômes d'adénopathies inguinale et iliaque typiques, nous n'avons pu vérifier les conclusions de Midana et de Gaudenzi ; le titre alexique était sensiblement normal (H^o IX et VIII).

Trypanosomose. — Sicé, au cours d'études sur les modifications sérologiques dans la maladie du sommeil, a établi que les individus atteints de trypanosomose africaine ont un pouvoir alexique généralement très faible. Ceci confirme partiellement les résultats expérimentaux de Hartoche et Yakimoff, ainsi que de Yorke, qui ont mis en évidence une chute alexique chez les cobayes trypanosomés, cette chute n'apparaissant seulement qu'à la période terminale de l'infection.

L'ALEXINE DANS QUELQUES AFFECTIONS HÉMATOLOGIQUES.

Depuis les théories de sécrétion alexique exposées par Metchnikov et les notions dues aux recherches expérimentales de Gengou, l'étude des relations entre le pouvoir alexique et les éléments figurés du sang s'est enrichie de nouvelles données cliniques fournies par l'observation d'affections hématologiques maintenant mieux classées. C'est la découverte fortuite d'états hyperalexiques chez des sujets atteints de leucémies myéloïdes qui constitua le point de départ de nos travaux sur le pouvoir complémentaire ; malheureusement les résultats obtenus n'ont pas apporté d'éléments de certitude permettant de résoudre le problème de l'origine alexique.

L'alexine dans les leucémies. — Une série de dosages effectués de 1935 à 1939 avait confirmé nos impressions premières sur l'augmentation du pouvoir complémentaire au cours de la leucémie myéloïde. De son côté, Mme Chevrel-Bodin, chef de laboratoire des hospices civils de Rennes, parvenait à des conclusions semblables. Dans une communication présentée, avec cet auteur, à la Société de Biologie de Marseille en juin 1939, nous pouvions déclarer : « Nos recherches permettent donc de conclure à une nette augmentation du pouvoir complémentaire dans le sérum des leucémiques ; ces résultats nous paraissent intéressants parce qu'il confirment les constatations expérimentales de Büchner et de Gen-

gou sur les rapports étroits qui existent entre alexine et leucocytes polynucléaires ; ils n'apportent cependant pas la preuve formelle d'une sécrétion leucocytaire de l'alexine, théorie si âprement défendue par ces auteurs. » En dehors de nos impressions premières, non vérifiées par des titrages suffisamment précis, ces conclusions reposaient sur l'observation de cinq cas de leucémies myéloïdes au début de leur évolution, avant tout traitement radiothérapique ; l'élévation du titre alexique rigoureusement mesuré était particulièrement nette (2 à 5 fois la normale). Nous nous trouvions cependant en désaccord avec la plupart des publications faites à ce sujet ; Cori et Radnitz ainsi que Wendlberger signalent l'abaissement du taux complémentaire chez des sujets atteints de leucémies myéloïdes ; Bonnano déclare que dans 5 cas de leucémie myéloïde le pouvoir complémentaire s'est montré assez faible en moyenne ; Milos Netousek et Joseph Pesek trouvent une fois un titre normal et dans un second cas une diminution. En réalité, cette contradiction apparente était due à ce que nous n'avions étudié l'activité alexique qu'à une étape particulière de la maladie, la poussée évolutive du début. En effet, nous avons eu l'occasion de revoir deux de nos malades à la fin de leur évolution, nous avons pu examiner trois autres sujets à la période terminale : dans ces conditions, le titre alexique s'est révélé quatre fois très abaissé et une fois subnormal. Un cas a été particulièrement démonstratif : il s'agissait d'un homme de 62 ans que nous avons pu suivre grâce à l'obligeance du Dr Toinon ; lors de l'identification de sa leucémie, en 1938, il avait présenté un taux alexique très élevé (5 fois normal) ; un traitement radiothérapique amena une rémission de 1 an et demi ; le premier mai 1939, à la suite d'une nouvelle série de rayons X nécessitée par la reprise de l'évolution, la leucocytose tombe à 15.000 avec une tendance à la mononucléose (polynucléaires 40 %), en même temps, on note une légère anémie (3.340.000), le pouvoir alexique se montre cette fois extrêmement faible (Ho à XV) ; troublé par ce résultat inattendu, nous demandons de pratiquer un nouvel examen ; le 11 mai 1939, le nombre des leucocytes n'est plus que de 8.000, l'anémie s'est accentuée à 2.700.000 et la formule indique une véritable lymphocytose ; le titre alexique est alors pratiquement nul (H₁ à XX) et le pouvoir bactéricide vis-à-vis du staphylocoque et du colibacille est diminué de moitié ; ces deux dernières constatations ont d'autant plus d'intérêt que le malade présente à ce moment une infection cutanée généralisée à

type impetigo mixte staphylo-streptococcique avec par endroits de véritables abcès sous cutanés, le tout évoluant sans température ; cette infection torpide survenait donc sur un terrain dépourvu de toute réaction défensive comme la fièvre, l'hyperleucocytose ou la polynucléose. Le malade mourut quelques mois plus tard. Nous avons vérifié une nouvelle fois, en août 1939, la persistance de cette déficience alexique et de l'infection cutanée, mais les événements qui survinrent peu après ne nous permirent pas de suivre ce malade jusqu'à la fin de l'évolution. On peut se demander si la chute alexique qui, dans le cas précédent, complétait si bien le tableau anergique, n'est pas responsable des infections intercurrentes qui emportent si souvent les leucémiques. Cependant, la faiblesse du titre alexique n'est pas toujours concomitante d'une chute de l'hyperleucocytose ; nous l'avons rencontrée avec 40.000 globules blancs au moment d'une reprise évolutive. Il semble plutôt qu'à une certaine période, l'équilibre protéique soit profondément troublé par suite du dysfonctionnement des organes hématopoïétiques et c'est à ce moment que se produit la diminution du pouvoir complémentaire.

Dans les leucémies lymphoïdes, nous n'avons pas remarqué de modifications bien appréciables (une légère augmentation, une légère diminution, un titre normal). Netousek et Pesek trouvent dans un cas un abaissement, Bonnano enregistre un résultat identique.

Anémies. — Elles entraînent des modifications peu importantes n'obéissant pas à des règles bien précises.

Goldner (1929) avait signalé un abaissement du taux alexique dans quelques cas d'anémie pernicieuse. Chez vingt malades que nous avons eu l'occasion d'observer, le titre alexique s'est montré presque toujours légèrement supérieur à la normale ; cette augmentation fut particulièrement prononcée (H^3 à II et III) chez deux sujets fortement anémiés à la suite d'hémorragies chirurgicales très abondantes. Ces faits sont à rapprocher de l'hyperalexie expérimentale consécutive à la saignée. Nous avons relevé une baisse assez notable (H^3 à XII) chez une malade ayant 1.320.000 globules rouges et 2.000 leucocytes, avec une valeur globulaire à 0,8 et une déficience alexique totale (H^3 à XXI) dans un cas d'anémie aplastique considérable (660.000 globules rouges), dans ce dernier cas le prélèvement fut effectué 4 jours avant la mort.

Il semble donc que d'une façon générale les anémiques soient

plutôt hyperalexiques, même dans des formes aplastiques, mais qu'au-dessous d'un certain chiffre, variable selon les sujets, et à la fin de l'évolution, l'anémie aplastique s'accompagne d'une déficience complémentaire pouvant aller jusqu'à la disparition.

Polyglobulies. — Elles déterminent un abaissement du titre alexique. Cette opinion personnelle est basée sur l'examen de trois sujets atteints de maladie de Vaquez chez lesquels nous avons trouvé des taux alexiques de H^3 à XIV, X et XII. Dans un cas que nous avons pu suivre dans le service du Professeur Olmer, la radiothérapie ne releva point la valeur du pouvoir complémentaire. Netousek et Pesek, par contre, n'ont constaté aucun changement du pouvoir alexique chez trois malades atteints d'érythrémie. Il est bien difficile de donner une interprétation de ces faits.

Hémophilie. — D'après Hyde, le sérum ou le plasma des hémophiles possède une alexine à peu près normale.

MALADIES DU FOIE.

Tous les auteurs s'accordent à reconnaître l'existence d'une chute alexique au cours des affections hépatiques. Il est peu de paragraphes concernant les variations pathologiques du complément qui réunissent une telle unanimité.

V. Bergmann et Keuthe observent une diminution du complément dans l'atrophie jaune aiguë. Dans une étude portant sur 80 cas d'affections hépatiques les plus diverses, Goldner trouve un abaissement notable du titre alexique chaque fois que le tissu hépatique paraît touché sur une assez grande surface ; Bauer, de Vienne, constate une diminution constante du complément dans les maladies du foie, cette chute est parallèle à la gravité du tableau clinique. Lipkin (1932), sur 6 cas de cirrhose, relève 3 diminutions et 3 disparitions du pouvoir alexique. Veil, Buchholtz, de même que Paul et Pely (1934), signalent la faiblesse du complément dans les affections hépatiques, tandis que pour Netousek et Pesek seules les cirrhoses entraîneraient un abaissement net (10 fois sur 17) ; l'ictère catarrhal ne déterminerait aucune modification, cette constatation est valable pour 3 cas de cancer nodulaire du foie, 3 syphilis hépatiques et 3 lithiases biliaires. Meersseman et Perrot (1937) retrouvent une baisse notable, même dans les affections bénignes comme l'ictère catarrhal. Pour Schuchardt (1939), le titre alexique est faible chaque fois qu'il y a hépatite. Personnellement, deux fois sur trois nous avons relevé une légère diminution de l'acti-

tivité alexique dans l'ictère catarrhal ; chez 6 cirrhotiques (5 cirrhoses de Laennec et 1 cirrhose de Hanot et Gilbert), le titre alexique était très abaissé, de même que dans un cas de syndrome de Banti au 3^{me} stade de son évolution ; par contre, 2 cholécystites subaiguës, dont une lithiasique, ne montrèrent aucune modification.

Il semble donc bien établi que, comme le pensent Goldner, Bauer et les autres auteurs, le pouvoir complémentaire dépend, dans une certaine mesure, de l'état fonctionnel du foie ; des lésions circonscrites, même comme celle du kyste hydatique (Goldner) ou du cancer nodulaire (Netousek et Pesek), par exemple, des affections des voies biliaires extra-hépatiques comme la cholécystite lithiasique, n'entraînent pas des variations alexiques. Par contre, chaque fois que le tissu hépatique est touché sur un assez grande étendue, même d'une façon bénigne et passagère comme dans quelques ictères catarrhaux, le pouvoir complémentaire s'en trouve affecté. Il existe un certain parallélisme entre la déficience alexique et l'intensité de la lésion hépatique : dans la fièvre jaune, par exemple, la cellule hépatique est brutalement touchée, le complément disparaît rapidement et à peu près complètement, mais, en cas de guérison, le processus infectieux laisse peu de cicatrices et le titre alexique se relève parallèlement à l'amélioration fonctionnelle du foie ; dans les cirrhoses, au contraire, la diminution du complément est moins rapide, mais elle est aussi régulièrement et lentement progressive que la fibrose qui envahit les travées hépatiques et qui réduit d'autant la capacité fonctionnelle du foie.

MALADIES DE LA NUTRITION ET INTOXICATIONS.

Nous serons bref sur ce paragraphe, ayant déjà traité en grande partie le sujet dans le chapitre des variations physiologiques et expérimentales. Rappelons les observations faites par Colombo en médecine infantile : chez les nourrissons atteints de diarrhée et en état d'athrepsie le titre complémentaire est élevé ; il redevient normal ou subnormal avant la mort et, d'après cet auteur, cette augmentation du pouvoir alexique chez les nourrissons malades constituerait une réaction de défense de l'organisme contre l'infection, tandis que la baisse de ce pouvoir au moment de l'agonie traduirait un état d'anergie.

D'après Sweet, le diabète pancréatique entraînerait de l'hypoalexie, mais Netousek et Pesek ont noté des titres normaux chez deux diabétiques et ne signalent qu'un cas d'abaissement dans un

diabète insipide ; il en est de même de l'intoxication par l'oxyde de carbone (Kandiba et Danidowa) et de l'empoisonnement par l'alcool (Abbot et Bergey).

NÉPHRITES.

L'atteinte du parenchyme rénal a un retentissement certain sur le pouvoir complémentaire ; nous avons plusieurs fois observé une hypoalexie au cours de néphrites urémigènes (7 cas) ou simplement au cours d'albuminuries d'une certaine importance (6 cas), ou encore chez les sujets présentant des œdèmes mous (2 cas) ; dans un cas de néphrose lipoidique avec élément néphrétique surajouté et assez avancé (azotémie 1 gr. 15), le titre alexique était particulièrement bas. Neisser et Doering (1901) avaient vu que le complément diminuait dans les fortes urémies. Veil admet que le pouvoir alexique fait défaut chez des sujets atteints de glomérulo-néphrites ; Netousek et Pesek, sur 27 cas de néphrite aiguë, enregistrent 22 diminutions et 5 valeurs normales. Schuchardt (1939) aboutit à des conclusions identiques. Plus récemment, C.-E. Kellet et J. Creig-Thomson établissent une distinction suivant le processus histo-pathologique ; le pouvoir alexique est sensiblement abaissé dans le cas de glomérulo-néphrite aiguë (5 fois sur 5) ; par contre, ce pouvoir resterait dans des limites normales chez les malades atteints de néphrite subaiguë (5 cas) ou chronique (10 cas). L'examen du titre alexique permettrait donc, selon ces auteurs, de confirmer ou d'exclure le diagnostic de glomérulo-néphrite ; cette opinion est à rapprocher de la conception de Veil (1932) qui pense que la chute de l'alexine traduit souvent l'existence d'une lésion capillaire. Nous avouons que ces nuances nous paraissent un peu trop subtiles ; en réalité, là comme ailleurs, lorsqu'une lésion est suffisante pour entraîner des modifications humorales, le pouvoir complémentaire diminue en conséquence.

MALADIES DU CŒUR.

Chez les cardiaques bien compensés, le principe complémentaire n'est pas touché (6 cas de rétrécissement mitral, 4 cas d'insuffisance aortique) ; mais dès qu'il y a le moindre signe d'hyposystolie et en particulier d'insuffisance cardiaque droite, le titre alexique se trouve modifié, le plus souvent dans le sens d'un abaissement, comme nous l'avons toujours remarqué (4 cas de myocardite d'œdème avec rosé malléolaire : H³ à XII, XII, XIV, XII ; 1 cas

de foie cardiaque : H^0 à XV), et comme le signale Levison (1931), ou rarement dans le sens d'une augmentation comme a pu l'observer ce dernier auteur.

D'après Veil (1931), les endocardites aiguës détermineraient de l'hypoalexie, tandis que Netousek et Pesek enregistrent 12 valeurs normales sur un total de 18 cas. Personnellement, notre expérience se borne à l'étude d'une endocardite subaiguë (maladie d'Osler) et d'une endocardite rhumatismale avec toutes deux titre alexique assez bas (H^3 à XIII, XIV).

ETATS ANAPHYLACTIQUES.

Le choc anaphylactique entraîne une chute considérable du taux complémentaire ; c'est un fait admis de façon unanime. Inglessi le signale à propos de la maladie du sérum consécutive au traitement de la diphtérie ; d'autres auteurs, comme Buchholtz, Nadejde, Netousek et Pesek, Meersseman et Perrot, et plus récemment Schuchardt, indiquent tous une diminution constante et marquée dans les états anaphylactiques tels que les réactions sériques ou l'asthme. Lors de notre stage d'internat au service des contagieux, nous avons eu la même impression. Au moment des réactions sériques (3 cas de tétanos guéri et 1 cas de réaction sérique après injection préventive de 10 cc de sérum), nos malades présentaient un titre alexique diminué de moitié ou des trois quarts. Plus récemment, nous avons trouvé une baisse analogue au cours des réactions d'intolérance au sulfarsénol (H^3 à XV) ayant entraîné un purpura et à la suite d'une injection de cyanure qui, fait exceptionnel, déclencha un syndrome de shock très accusé (vomissement, hypothermie, lipothymie, hypotension 6/2, Pachon et Prurit) ; dans ce dernier cas, le titre alexique était représenté par H^3 à XIV ; nous avons obtenu un chiffre aussi bas chez un sujet ayant effectué une crise typique d'œdème de Quincke devant nous. Cependant, il convient de distinguer ce qu'on pourrait appeler les états anaphylactiques aigus, en un mot le véritable shock anaphylactique, au cours desquels le pouvoir alexique est toujours considérablement diminué, et les états anaphylactiques chroniques comme certains eczémas, certaines dermo-épidermites professionnelles, qui donnent lieu à des modifications peu importantes et de sens variables (2 cas d'eczéma généralisé et rebelle des quatre membres, avec légère augmentation : H^3 à IV et V, et 2 cas de dermo-épidermite professionnelle — huile d'arachides — avec H^3 à VIII et X). La

maladie de Duhring Brock, qui par certains côtés s'apparente aux maladies anaphylactiques, s'accompagne d'un taux complémentaire normal (VII) ou légèrement élevé (IV).

Donc, la chute alexique paraît réservée aux shocks anaphylactiques d'une certaine intensité et dure autant que la phase aiguë des états anaphylactiques.

L'ALEXINE CHEZ LES OPÉRÉS.

Cette étude est entièrement due à C. Scartozzi, dont nous rapporterons les conclusions ; elles reposent sur la base de 45 observations au cours desquelles furent pratiquées 215 déterminations du pouvoir alexique, grâce à l'excellente méthode de l'auteur : d'une façon générale, dans les premières heures qui suivent l'opération, le pouvoir complémentaire ne change pas ou diminue légèrement ; après ce délai et pendant 2, 4 ou 5 jours, le titre alexique s'élève de façon notable (jusqu'au delà du double), puis le pouvoir complémentaire revient à des valeurs normales en 6, 10 ou 15 jours, selon les cas. En étudiant le comportement de la leucocytose et de la formule d'Arneth (dont la valeur est bien discutable), Scartozzi constate qu'il existe un certain parallélisme entre ces éléments et le pouvoir complémentaire, sans pouvoir cependant conclure à des rapports de cause à effet. « En examinant le comportement des opérés, on est frappé par le fait que l'élévation du pouvoir alexique se produit précisément à la période où surviennent généralement les complications post-opératoires. On pourrait voir là l'expression d'une défense de l'organisme, défense qui paraît liée au déséquilibre colloïdal provoqué par l'intervention, et aussi, dans une certaine mesure, aux variations des polynucléaires neutrophiles dans le sang ». Une évolution absolument semblable a été signalée dans les interventions oto-rhino-laryngologiques (G. Verdolini).

ALEXINE ET SHOCK TRAUMATIQUE.

Trivellini et Mauri nous apportent des données cliniques et pathologiques pleines d'intérêt. Dans 27 cas de traumatismes graves, le pouvoir complémentaire subit des variations dans le sens d'une diminution appréciable, particulièrement prononcée dans les traumatismes crâniens ; les valeurs du titre alexique sensiblement amoindries dans les premières heures du traumatisme (24 à 48 heures) reviennent graduellement à la normale à mesure que s'améliorent les conditions locales et générales du patient.

« Sans vouloir attribuer au pouvoir complémentaire une valeur

pronostique absolue, on peut noter que les variations de ce pouvoir sont parallèles à l'évolution de l'état général ; une amélioration ramène rapidement le titre alexique à la normale ; par contre, en cas d'aggravation, le pouvoir alexique diminue de façon notable et cet abaissement, qui s'accroît jusqu'à la mort, est un élément inséparable des signes pathognomoniques qui préludent à la « catastrophe ».

Les recherches expérimentales de C. Colombo et L. Zanetti ont abouti à des conclusions analogues ; ces auteurs ont provoqué, sur 12 chiens, des chocs traumatiques par des manœuvres de traction et de compression de l'estomac et ont déterminé les pouvoirs complémentaire, phagocytaire et bactéricide avant et après le choc. Dans 5 expériences exécutées sous anesthésie à l'uréthane ou à la chloralose, ils ont relevé des modifications inconstantes ; dans les 7 autres expériences, exécutées sans anesthésie, les pouvoirs complémentaire, phagocytaire et bactéricide ont diminué constamment tout de suite après le shock et sont revenus à la normale, ou à peu près, dans les 24 heures. Les données cliniques et expérimentales précédentes permettent de formuler quelques hypothèses quant à l'origine de ces variations alexiques. Classiquement, on distingue trois interprétations pathogéniques du shock traumatique : ce sont les théories nerveuse, toxique et hémorragique. Cette dernière importe peu dans la discussion qui nous intéresse. La théorie nerveuse, qui s'appuie sur l'hypotension et l'hypothermie, fait intervenir un mécanisme réflexe dont le stimulus est constitué par les phénomènes douloureux produits au niveau du foyer traumatique et dont les effets centrifuges aboutissent à une inhibition des centres vaso-moteurs ; un fait paraît en faveur de cette explication pathogénique : l'anesthésie atténuée dans une certaine mesure l'hypoalexie qu'entraîne ordinairement le shock traumatique.

La théorie toxique fait appel à la libération de substances toxiques (histamine ou autres) à partir du foyer d'attrition ; il est à remarquer qu'en dehors des traumatismes crâniens où les modifications sont toujours plus marquées, la chute alexique est d'autant plus accusée que les broiements musculaires et osseux sont plus importants ; on peut très bien concevoir que ces corps toxiques libérés entraînent une fixation massive de l'alexine comme cela se passe probablement au cours du shock anaphylactique ; ou bien agissent-ils indirectement en modifiant l'équilibre acide-base ou en excitant les centres neuro-végétatifs dont les réactions se tra-

duisent par des altérations humorales importantes, par l'hypotension et par l'hypothermie. Bien qu'on n'ait pu établir aucune relation de cause à effet entre ces divers éléments symptomatiques, on est en droit d'affirmer que la chute alexique complète le syndrome humoral du shock traumatique et suit son évolution.

Quand on considère les éléments que nous venons d'exposer, il est difficile d'attribuer une signification précise aux variations du titre alexique. Cependant, de cette accumulation de documents contradictoires, il est permis de dégager ces quelques impressions : En dehors des chutes alexiques brutales et passagères dues à des phénomènes de shock, une diminution constante et progressive du titre complémentaire est généralement du mauvais augure, ce qui ne veut pas dire qu'une valeur élevée soit un indice de bénignité et entraîne un pronostic favorable à longue échéance ; nous avons vu que dans la tuberculose, par exemple, l'élévation du pouvoir complémentaire constituait souvent un signe d'évolutivité ; du reste, il peut se produire des chutes brutales au cours de ces états hyperalexiques.

D'une façon générale, dans les affections de longue durée, au début de l'évolution, on enregistre des titres normaux ou quelquefois élevés, comme dans les leucémies myéloïdes et certaines anémies ; puis à la période d'aggravation, la plupart du temps, le pouvoir alexique diminue assez brusquement et se maintient à des taux inférieurs jusqu'à la mort qui peut survenir par infection intercurrente.

Dans les états infectieux, d'après Patrone (1930), la chute alexique assombrirait le pronostic au même titre que la disparition de la polynucléose ; c'est également l'impression d'Osborn.

Enfin, comme le pensent justement Meersseman et Perrot, les chiffres absolus ont peu de valeur, seules comptent les variations relatives du pouvoir alexique chez un même individu au cours de l'évolution d'une même affection ; à ce propos, nous nous permettons de rappeler le cas de cet homme qui, à la suite d'un traitement radiothérapique intensif, passa d'un état leucémique à une leucocytose normale avec lymphocytose, parallèlement le titre alexique, très élevé au début de l'évolution, devint pratiquement nul et à ce moment apparut une infection cutanée et sous-cutanée, sans réaction fébrile ni leucocytaire, infection qui persista jusqu'à la mort.

Origine du complément *in vivo*

Nous avons dit qu'une saignée abondante provoquait une diminution légère et passagère du pouvoir complémentaire, suivie d'un retour rapide au taux habituel ou quelquefois même d'une augmentation de ce taux. L'intervention d'un système hémolytique *in vivo* (Rehns) ou la simple introduction d'un sérum préparé contre les hématies de l'animal injecté (Gruber) conduisent à des résultats analogues : l'hémolyse, qui se traduit par une hématurie abondante, s'accompagne de chute alexique ; mais les effets de cette dépense peuvent être réparés en quelques heures. Un autre exemple de cette régénération du complément nous est fourni par Coca : cet auteur perfuse un cobaye riche en complément avec un sang complémentaire ; une heure et demie après le traitement, le pouvoir alexique représente déjà les 8 à 30 % de la valeur originelle. Muller décrit une récupération alexique du même ordre, après abaissement du pouvoir complémentaire par injection de cellules de levures.

Il est donc bien établi que le pouvoir complémentaire est capable d'être régénéré assez rapidement *in vivo*. Cependant, on est encore au stade des hypothèses quant à la détermination des organes ou des tissus responsables de cette élaboration.

Nous ne reviendrons pas sur les discussions qui intéressent l'existence même du pouvoir alexique dans le plasma circulant. Les auteurs qui nient cette existence considèrent le principe complémentaire comme le produit d'une désintégration cellulaire *in vitro*. D'autre part, nous avons cité des exemples qui permettent de mettre en évidence, avec certitude, des actions complémentaires *in vivo*. Cependant, cela ne veut pas dire que le principe alexique, responsable de telles actions, soit présent normalement dans le torrent circulatoire ; il est possible qu'il n'y apparaisse que par suite d'une modification cellulaire ou humorale ; l'injection des antigènes, ou des anticorps, ou des complexes antigènes-anticorps, qui sert à rechercher *in vivo* le phénomène lytique complémentaire peut très bien être à l'origine de ces modifications. Comme le dit très justement Osborn : « On n'a pas encore prouvé que le complément est ou n'est pas présent dans le sang circulant ; mais il semble certain qu'il peut être « démasqué », quand cela est nécessaire, même s'il n'est pas présent normalement comme complé-

ment libre et actif ». De sorte que lorsque nous traitons le problème de l'origine du complément *in vivo*, nous parlons très vraisemblablement des facteurs qui régissent la production de principes susceptibles de se transformer en alexine au moment voulu. Mais le pouvoir alexique que nous titrons dépend de la réserve alexique inactive d'une part, et de sa faculté de transformation en complément libre et actif d'autre part ; il est impossible de dissocier les deux éléments et cela n'est pas fait pour simplifier l'étude d'un problème déjà si complexe.

ORIGINE LEUCOCYTAIRE.

Sous l'influence de Metchnikov, malgré les découvertes de Behring et Nissen ou de Buchner sur les propriétés bactéricides des sérums exempts de cellules, de nombreux biologistes continuèrent à considérer les phénomènes lytiques comme étant liés de façon plus ou moins directe à la fonction leucocytaire. Revenant sur la vieille lutte qui divisait les partisans des théories cellulaire et humorale, Gengou (1901) déclarait : « Il existe effectivement une théorie humorale, cela ne veut pas dire qu'il faille l'opposer à la théorie cellulaire, l'une et l'autre présentent de nombreux points communs », et Bordet ajoutait quelques années plus tard : « Le pouvoir bactéricide du sérum n'est peut-être que l'expression affaiblie par la dilution de l'énergie digestive du phagocyte, celui-ci représentant la source même de l'alexine ». Buchner lui-même croyait à une sécrétion leucocytaire de l'alexine, tandis que selon l'hypothèse de Metchnikov (1899), l'alexine résidait dans les phagocytes pendant leur vie et apparaissait dans le sérum ou le plasma après leur désintégration, qu'elle soit artificielle ou qu'elle s'effectue par phagolyse biologique.

Cette conception s'appuie sur de nombreux faits pathologiques et expérimentaux : le pouvoir bactéricide existe normalement dans le sérum, mais lorsqu'on injecte des microbes dans le torrent circulatoire, ce pouvoir semble proportionnel à la réaction leucocytaire engendrée par ce traitement (Werigo, 1891) ; une constatation analogue est faite par Denys et Henri : les exsudats riches en leucocytes ont un pouvoir bactéricide supérieur à celui des sérums sanguins correspondants. Cependant, on pourrait opposer à ce dernier argument que de telles actions bactéricides peuvent être rapportées à la phagocytose ; une expérience de Metchnikov (1895) permet d'écarter cette objection : quelques gouttes d'un exsudat

débarrassé de ses éléments cellulaires suffisent à réactiver un immunosérum vieilli et après cette addition il est possible de produire le phénomène de Pfeiffer *in vitro* ; rien de tel ne peut être obtenu avec des liquides d'œdème passif. Moxter, Von Dungern, Bail, retrouvent cette action bactériolytique des exsudats, mais ne précisent pas la nature des leucocytes en cause. C'est ce que recherche Gengou (1901) : lorsqu'on crée une pleurésie exsudative par injection de gluten-caséine chez le chien ou chez le lapin, l'exsudat des vingt-quatre premières heures est très riche en polynucléaires, tandis que celui qui est ponctionné trois ou quatre jours après contient presque exclusivement des mononucléaires. De même, l'injection de globules rouges de cobaye chez le lapin provoque l'apparition d'un liquide riche en macrophages. Par une centrifugation, il est facile de recueillir les variétés leucocytaires précédentes ; Gengou traite ensuite les leucocytes par la méthode de congélation et réchauffement successifs, imaginée par Buchner ; il obtient ainsi des extraits de polynucléaires et des extraits de mononucléaires et compare leurs valeurs alexiques respectives.

Les accroissements du pouvoir bactéricide qu'entraîne l'addition d'une même quantité de ces différents extraits à un même volume de sérum, sont beaucoup plus marqués dans le cas des extraits de polynucléaires ; cette action favorisante disparaît par un chauffage d'une demi-heure à 56° ou par l'intervention d'un système hémolytique qui fixe l'alexine.

D'autre part, Gengou prétend que les plasmas obtenus *in vitro* seraient en réalité des liquides artificiels, plus ou moins modifiés par l'altération des éléments figurés au moment de l'extraction et se rapprochant davantage du sérum que du plasma circulant *in vivo*. Ces recherches l'amènent aux conclusions suivantes : « Ces résultats démontrent que l'alexine chez le chien et chez le lapin se trouve en plus grandes quantités dans les leucocytes polynucléaires que dans le sérum normal du sang, tandis que les leucocytes mononucléaires ne doivent en contenir que de faibles proportions. On peut logiquement en déduire que les premiers, les leucocytes polynucléaires, sont la source de l'alexine normale », et il ajoute : « Non seulement les leucocytes polynucléaires sont les producteurs de l'alexine des sérums normaux, mais encore ils la gardent en eux tant que leurs conditions normales de vie dans le liquide sanguin ne sont pas modifiées ».

Cette conception est cependant de moins en moins admise ;

il n'est pas prouvé que le pouvoir alexique des exsudats soit exclusivement dû à la présence de polynucléaires, il est peut-être beaucoup plus en rapport avec les propriétés bio-chimiques qui caractérisent les liquides réactionnels inflammatoires, comme l'indique la réaction de Rivalta, par exemple. Les extraits leucocytaires de Buchner ou de Gengou sont bactéricides, mais se montrent incapables de lyser des hématies sensibilisées. La transformation des vibrions en granules n'est pas toujours le fait d'une action alexique ; dans les vieilles cultures en bouillon on observe les mêmes altérations morphologiques. La libération d'alexine par l'altération des leucocytes n'est pas davantage une certitude ; contrairement à l'opinion de Gengou, il est possible d'obtenir des plasmas alexiques sans léser considérablement les éléments figurés du sang ; notre expérience sur la conservation du sang en milieux citratés nous a permis d'acquiescer cette conviction ; du reste, Lambotte et Steinon considèrent que les leucocytes ne sont pas des éléments fragiles et qu'ils conservent leurs propriétés après centrifugation répétée et lavage aux solutions salines ; de plus, quand on les débarrasse de toute trace de pouvoir alexique, par de nombreux lavages, ils sont incapables de régénérer aucun complément, même lorsqu'ils sont traités par des substances telles que l'extrait thyroïde ou la peptone qui stimulent la formation d'alexine.

Les constatations cliniques et expérimentales concernant les rapports entre la richesse leucocytaire et la teneur en alexine sont pleines de contradictions.

Cliniquement, d'une façon générale, les infections s'accompagnant d'hyperleucocytose entraînent généralement de l'hyperalexie. Scartozzi croit pouvoir remarquer un rapport entre l'augmentation du pouvoir complémentaire et l'hyperleucocytose qui survient après les interventions chirurgicales ; dans les tuberculoses graves, il a pu voir avec Griva une augmentation du complément parallèlement à une hyperleucocytose, mais avec une déviation de la formule d'Arneth vers la gauche ; nous savons que, de nos jours, ce dernier test n'a plus aucune signification. Veil, de son côté, signale des cas d'hyperalexie au cours d'agranulocytose. Les résultats que nous avons obtenus dans nos déterminations du pouvoir alexique chez les leucémiques nous avaient fait nettement envisager la possibilité d'une origine leucocytaire de l'alexine ; la chute complémentaire qui accompagnait la diminution de l'hyperleucocytose chez nos malades, après un traitement radiothérapique, était

un argument encore plus convaincant ; mais la persistance de l'hypoalexie à la fin de l'évolution, même après une reprise de l'hyperleucocytose, fait rejeter cette hypothèse ; on peut cependant objecter qu'au début d'une leucémie myéloïde les organes hématopoïétiques en hyperfonctionnement élaborent des quantités d'éléments jeunes trop considérables pour leur laisser le temps d'arriver à maturité, cependant il ne s'agirait là que de l'exagération d'un processus normal ; au contraire, à un stade plus avancé, il existe en plus un dysfonctionnement de ces organes qui peut être responsable de la déficience alexique.

Expérimentalement, si Nestorescu ou Kujumgieff constatent une élévation du titre alexique dans le sérum d'animaux atteints d'abcès de fixation provoqués par l'injection d'essence de térébenthine, Scartozzi prétend que ces abcès ne déterminent que des oscillations insignifiantes du pouvoir complémentaire. Du reste, le pus aseptique qu'ils contiennent est dénué de toute activité alexique.

L'injection d'acide nucléique ou de lait ne modifie que très rarement le titre alexique (Busse, 1908 ; Mazzeo, 1932 ; Scartozzi, 1938) ; pour ce dernier auteur, l'acide nucléique produit, même dans certains cas, une légère diminution ; par contre, l'hyperleucocytose due à la cantharidine ou au collargol s'accompagne d'une légère augmentation (Scartozzi, 1938).

Cependant, si les hyperleucocytoses expérimentales s'effectuent parfois parallèlement à une élévation du taux alexique, les leucopénies obtenues par divers artifices n'ont jamais déterminé la moindre diminution. C'est ce qu'ont pu observer Lippmann et Flesch avec le thorium, Ecker, Kline et de Caluwe avec le benzol. Avec cette dernière substance, Scartozzi obtient même une augmentation du titre alexique. Quand on abaisse le nombre des leucocytes par les rayons X, le pouvoir complémentaire ne varie pas (Fränkel). Cependant, nous avons remarqué que chez les leucémiques, la radiothérapie amène une diminution du titre alexique parallèlement à la chute de la leucocytose. Au cours des leucopénies expérimentales qui s'accompagnent de graves lésions du système hématopoïétique, la régénération alexique ne semble pas touchée ; si, chez des animaux devenus « aleucocytiques » par injection de thorium X, on réduit le complément par injection d'hématies sensibilisées, le retour à des valeurs normales s'effectue dans le même temps que chez des animaux témoins (Lippmann). Cependant,

Belleli, au cours de multiples recherches cliniques, a pu noter que les maladies leucopéniques étaient rarement hyperalexiques, mais fréquemment hypoalexiques et même à un degré élevé ; nous n'avons jamais pu mettre en évidence ce fait avec une netteté suffisante.

Etant donné l'incertitude et la contradiction des résultats précédents, il est bien difficile d'affirmer l'origine leucocytaire du complément. Il est certain que les leucocytes possèdent une substance bactéricide, mais rien ne prouve qu'il s'agisse du complexe complémentaire ; il existe, d'ailleurs, des substances bactéricides provenant des leucocytes qu'on appelle des leukines et qui ont des propriétés différentes du complément.

Le fait que les leucocytes doivent être lavés plusieurs fois pour être complètement débarrassés du complément suggère qu'ils exercent une sorte d'influence absorbante ou adsorbante sur ce principe et on peut les considérer, avec Müller, plutôt comme les convoyeurs que comme les producteurs d'alexine. De plus, nous savons depuis Maltaner (1936) que des leucocytes très soigneusement lavés et dépourvus de toute activité complémentaire sont capables de réactiver un sérum traité par l'ammoniaque ; ceci permet de penser que les leucocytes fournissent au moins le quatrième composant à défaut du complexe complémentaire en entier.

MOELLE OSSEUSE.

Cette question est intimement liée à la précédente. Nous avons vu que les lésions médullaires créées par le thorium sont sans effet sur la régénération alexique ; cependant, d'après Famulari, un liquide de perfusion s'enrichit en midstück en traversant la moelle osseuse ; néanmoins, les extraits médullaires sont dépourvus de midstück.

RATE. GANGLIONS.

Ils ne paraissent pas intervenir dans l'élaboration du pouvoir complémentaire. La splénectomie n'a aucune influence, les dératés ont encore de l'alexine ; pour Famulari, elle augmenterait même le taux de complément. La perfusion d'un liquide à travers la rate déterminerait un enrichissement alexique (Famulari). Goreesky et G. Ludany, en arrêtant la circulation du sang dans la rate, par ligature des vaisseaux spléniques, remarquent que le sérum retenu présente un titre alexique de 10 à 50 % plus élevé

que celui du sérum du sang circulant, mais après contraction le sérum de la rate présente le même titre ; l'augmentation du taux complémentaire se produit donc sous l'influence de la rétention elle-même et non sous l'influence de l'organe où elle a lieu. En somme, il y a là une application particulière du phénomène général signalé par Osborn : le sang statique est plus riche en alexine que le sang circulant.

Les extraits de ganglions lymphatiques n'ont pas donné de résultats plus décisifs.

SYSTÈME RÉTICULO-ENDOTHÉLIAL.

Bordet, le premier, avait attiré l'attention sur l'importance des endothéliums dans l'alexinogenèse ; de Nunno, Eppinger, Stokw, Bulling, arrivent à provoquer une chute alexique par injection de substances comme le bleu trypan ou les saccharats de fer ; ils confirmaient ainsi les résultats de Jungeblut et Berlot sur l'action anti-complémentaire de l'encre de Chine *in vivo* ; Löwit avait du reste obtenu des effets analogues avec des injections de colloïdes comme l'agar, contrairement aux conclusions de Sigmund.

Pour Scartozzi, la régénération et, parfois, l'augmentation du pouvoir complémentaire après la saignée seraient en faveur de l'intervention du système réticulo-endothélial dans l'alexinogenèse ; sans entrer dans la discussion sur les rapports entre alexine et coagulation, question qui sera traitée ultérieurement, il est à remarquer qu'un hyperfonctionnement du système réticulo-endothélial après la saignée est vraisemblablement responsable de l'augmentation du fibrinogène et de la diminution du rapport sérine globuline. Or, d'après Scartozzi ou Bolaffi, cette dernière modification sérologique s'accompagnerait le plus souvent d'une élévation du titre alexique.

Les arguments précédents ne sont pas tous sans défaut. Les diverses substances qui produisent ce qu'il est convenu d'appeler un blocage du système réticulo-endothélial sont déjà anti-complémentaires *in vitro* (colloïdes, agar, encre de Chine, bleu trypan). A cela, de Nunno répond que la présence de ces substances dans le torrent circulatoire détermine d'abord une certaine adsorption du complément sanguin, après quoi elles se fixent sur les tissus et empêchent l'alexinogenèse par blocage du système réticulo-endothélial. Cependant, l'action anti-complémentaire de l'encre de Chine est de courte durée, elle se produit très rapidement et le

titre alexique revient à la normale en 24 heures (Jungeblut et Berlot). On peut aussi admettre que, même après leur fixation sur le système réticulo-endothélial, ces substances dites blocantes continuent pendant quelques heures à intervenir comme adsorbant, puis ce rôle cesse lorsqu'elles sont enfin saturées.

Du reste, Landsberger (1930) ne trouve aucune relation entre les variations complémentaires et l'activité du système réticulo-endothélial mesurée par l'index rouge congo.

Il est donc difficile d'admettre dans ces conditions l'origine réticulo-endothéliale du complément ; tout au plus, ce système intervient-il comme adjuvant, en entraînant des modifications sérologiques favorables à la suite de dépenses alexiques considérables, comme dans la saignée, par exemple. Quant à l'hypothèse de Famulari qui lui attribue l'élaboration « d'un des constituants », elle repose sur des bases vraiment trop insuffisantes pour être prise en considération.

ORIGINE HÉPATIQUE.

Faits pathologiques. — Nous avons vu que chaque fois que le parenchyme hépatique était touché sur une assez grande étendue pour retentir sur l'état fonctionnel du foie, le pouvoir complémentaire se trouvait abaissé. Selon l'expression de Meersseman et Perrot, ces faits pathologiques « sont en faveur des théories qui font du foie le grand producteur d'alexine ».

Faits expérimentaux. — La *dégénérescence du foie*, provoquée par l'intoxication phosphorée, s'accompagne d'une diminution progressive du pouvoir complémentaire (Ehrlich et Morgenroth).

— *L'intoxication alcoolique* conduit aux mêmes résultats (Abbot et Bergey).

Avec des poisons spécifiquement hépatiques comme le chloroforme ou l'hydrazine, Dick, et plus récemment Da Costa Cruz et Villela (1933), déterminent des chutes complémentaires très importantes.

— *L'intoxication hépatique* par l'injection de toxines (pyocyanique, strepto) entraîne les mêmes conséquences (H. Vincent).

Quand on prépare des animaux avec des émulsions de foie, on obtient des anticorps (hépatotoxine) qui inhibent plus ou moins spécifiquement la cellule hépatique ; une injection de sérum contenant ces hépatotoxines produit un abaissement du titre alexique (Mise, Vincent).

Plus récemment, ce dernier auteur a fait une série de constatations expérimentales très intéressantes : l'injection sous-cutanée de colibacilles modifie peu le pouvoir alexique ; chez un animal vacciné, elle ne détermine aucune infection ; l'inoculation de colibacilles par piqûres multiples du foie entraîne une cytolysé des cellules hépatiques, suivie de mort rapide. Même chez le lapin ou le cobaye vaccinés contre le colibacille, ce germe envahit rapidement tout l'organisme ; parallèlement, on enregistre un fléchissement du pouvoir alexique de 40 à 55 %. Ainsi, l'arrêt des fonctions physiologiques du foie suspend l'immunité ; cette dysphylaxie hépatique se traduit, entre autres phénomènes, par une chute complémentaire qui constitue une des causes d'affaiblissement des défenses de l'organisme.

— *Fistule d'Eck* : Quand on réduit la circulation hépatique par une fistule d'Eck, on ne modifie pas sensiblement le pouvoir alexique (Sherwood, Smith, West). Il est vrai que ce procédé n'affecte que la circulation hépatique porto-cave. Cependant, Manwaring, Hosepian, Enright et Porter n'ont jamais réussi à provoquer des shocks anaphylactiques chez des animaux porteurs de fistules d'Eck. Or, comme nous le verrons plus loin, il est vraisemblable que la crise d'anaphylaxie nécessite l'intervention du complément. Comme le fait remarquer Osborn, on ne s'aperçoit de cette déficience complémentaire que lorsqu'on veut rechercher un effet indirect du complément. Ceci n'est pas sans analogie avec le fait suivant : le rôle joué par le foie dans le métabolisme des hydrates de carbone ne se révèle que lorsqu'on mobilise le sucre.

— *Exclusion du foie* : La ligature des veines sus-hépatiques qui arrête la circulation transdiaphragmatique entraîne une chute considérable du titre alexique.

— *Hépatectomie* : Sur la grenouille, Friedberger et Seelig ont constaté un fléchissement très accusé du taux complémentaire après hépatectomie ; ces auteurs prétendent éliminer les effets du choc opératoire en déclarant que le pouvoir complémentaire restait normal après des opérations intéressant d'autres viscères, mais ces interventions étaient-elles vraiment aussi choquantes que l'hépatectomie ? Cependant, Liefmann n'enregistre aucune modification du pouvoir alexique chez les grenouilles hépatectomisées.

Chez les mammifères, avant les travaux de Mann et Magath (1923), il n'existait pas de technique opératoire permettant d'extirper le foie en obtenant une survie suffisante pour les besoins de

l'expérimentation. Utilisant la méthode d'hépatectomie de Mann et Magath, Rosenthal, Lieht et Melchion trouvent une chute alexique très nette chez les animaux qui survivent 12 heures ou plus à l'opération. Cependant, malgré cette survie, on doit faire la part qui revient au choc opératoire considérable.

— *Ligature des voies biliaires* : L'existence des hypoalexies au cours de l'ictère catarrhal, et l'action antialexique des sels biliaires étant bien connus, il était intéressant de rechercher les effets de la rétention biliaire par ligature du cholédoque. C'est ce que firent Falkenhausen et Sauer (1927). Ils ne purent déceler la moindre différence alexique entre des chiens ainsi traités et des témoins soumis à un choc opératoire analogue. L'injection de 0 gr. 5 de taurocholate de soude n'amène aucune modification, il est vraisemblable que l'action anti-complémentaire de la bile doit nécessiter une concentration beaucoup plus forte. Ces constatations expérimentales confirment les faits pathologiques que nous avons rapportés ; les affections des voies biliaires extra-hépatiques sont sans retentissement sur le pouvoir alexique.

— *Extraits hépatiques* : Jusqu'à présent, nous n'avons envisagé que des résultats négatifs, une lésion fonctionnelle du foie entraînant une chute du complément. Ces arguments n'apportent cependant pas la preuve d'une sécrétion de l'alexine par le foie. Les épreuves positives sont contradictoires. Ainsi, la pulpe du foie est ottalemment dépourvue de complément (Olsen). De même, Osborn n'a pu le mettre en évidence dans les extraits en solution saline.

— *Perfusion hépatique* : Elle permet d'enregistrer des éléments positifs en faveur de l'élaboration alexique. Un sang perfusé à travers un foie isolé s'enrichit considérablement en alexine si on a soin d'ajouter, avant la perfusion, de l'extrait thyroïdien (Müller) ; Hahn et Schramlik perfusent des foies avec des hématies sensibilisées ; celles-ci s'agglutinent dans les capillaires hépatiques, puis se lysent une heure après. Olsen apporte plus de précision : comparant les effets régénérateurs du foie sur des liquides de perfusion sensibilisés et traités par les divers composants alexiques, il s'aperçoit que le troisième composant est relativement déficient. En effet, l'addition de sérum chauffé à 55° pendant une demi-heure accélère considérablement l'hémolyse, alors que l'addition de midtück séparé ne modifie pas sensiblement le rendement alexique du liquide perfusé.

Tous ces faits peuvent se résumer dans ces deux conclusions :

1°) Un dysfonctionnement hépatique détermine une chute alexique ; cette chute n'est pas due à l'intervention d'un pouvoir anti-complémentaire ; au cours de la fièvre jaune, qui représente l'insuffisance hépatique aiguë type, Da Costa Cruz n'a jamais pu déceler la moindre trace de substance anticomplémentaire. Il trouve, en outre, que c'est l'endstück qui est le plus déficient dans le sérum des jauneux.

2°) La perfusion d'un liquide à travers le foie provoque un accroissement du taux complémentaire portant surtout sur les composants thermolabiles.

Il est donc permis de penser que le foie est en grande partie responsable de l'élaboration du principe complémentaire et en particulier des premier et deuxième composants, surtout en ce qui concerne la fraction endstück.

THYROÏDE.

Les travaux de Fassin et de Müller ont mis en évidence le rôle de la thyroïde dans la régulation de l'activité complémentaire. L'ablation de la glande thyroïde occasionne une chute alexique progressive ; l'injection ou l'ingestion de glande thyroïde produisent une élévation du complément hémolytique ; le traitement iodé donne les mêmes résultats ; telles sont les conclusions des recherches de Fassin. D'autre part, les opsonines de Wright sont beaucoup plus actives dans les sérums d'hyperthyroïdiens (Marbé) ; cette opsonification disparaît après chauffage à 56° ; on admet qu'elle est liée au pouvoir complémentaire.

Müller trouve qu'après l'injection ou l'ingestion de thyroïde, le complément et surtout les anticorps naturels s'accroissent dans de notables proportions. On peut pallier à la chute complémentaire des thyroïdectomisés par un traitement thyroïdien ; les préparations iodées qui agissent comme l'extrait thyroïdien chez les animaux normaux sont complètement inefficaces en l'absence de glande thyroïde. Si le taux complémentaire a été abaissé par injection de systèmes hémolytiques ou de cellules de levures, la régénération est nettement plus rapide chez les animaux auxquels on a administré de la thyroïde que chez ceux qui n'en ont pas reçu. L'administration de médications iodées ou la greffe thyroïdienne protègent le cobaye contre des doses microbiennes normalement mortelles et effectivement mortelles pour des témoins ; l'injection d'extraits thyroïdiens ne produit cependant pas le même résultat ;

l'exsudat péritonéal de cobayes infectés hyperthyroïdiens contient moins de vibriions survivants que l'exsudat d'un animal témoin semblablement infecté.

Tous ces faits expérimentaux qui sont dus à Müller paraissent particulièrement démonstratifs. Cependant, on a pu discuter leur valeur : Brun prétend que l'augmentation du titre alexique par injection d'extrait thyroïdien n'a rien de spécifique ; un tel effet de brève durée (24 heures au plus) peut très bien être rapporté à l'action des protéines contenues dans les préparations ; l'injection de sérum, de caséine, de suspension bactérienne aboutit au même résultat. Dick rapporte au choc opératoire la chute complémentaire observée chez les animaux thyroïdectomisés. On a pu trouver de l'hypoalexie au cours d'évolutions de goîtres exophtalmiques (Netousek et Pesek) mais, il ne faut point oublier que, dans la maladie de Basedow, à côté de l'hyperthyroïdie, il existe un dysfonctionnement thyroïdien qui est responsable de troubles encore plus considérables.

En réalité, malgré les quelques objections précédentes, l'activité alexique semble dépendre partiellement de la sécrétion thyroïdienne ; d'après Müller, la thyroïde agirait de façon indirecte en stimulant le foie dans sa production d'alexine ; un sang perfusé à travers le foie s'enrichit beaucoup plus en complément lorsqu'on a soin d'ajouter de l'extrait thyroïdien.

INTERVENTION POSSIBLE D'UN MÉCANISME NEURO-ENDOCRINIEN.

Le rôle joué par la thyroïde est un exemple frappant des interactions glandulaires ; il est possible que ces corrélations endocriniennes s'étendent à d'autres glandes ou au système neuro-végétatif. Les répercussions alexiques qu'entraîne la rupture de l'équilibre vago-sympathique, la chute alexique au cours du shock traumatique, peuvent s'expliquer par un mécanisme neuro-endocrinien. Cependant, les preuves expérimentales sont encore trop fragiles et trop insuffisantes pour transformer ces hypothèses en certitudes scientifiques.

En conclusion, dans l'état actuel de nos connaissances, il est impossible d'attribuer de façon exclusive l'élaboration du principe complémentaire à un organe déterminé. L'alexinogenèse paraît résulter de la synergie sécrétoire de divers tissus. Le parenchyme

hépatique reste le gros producteur d'alexine, surtout en ce qui concerne les composants thermolabiles, l'endstück en particulier. La thyroïde stimule cette fonction. Le système réticulo-endothélial ne paraît pas intervenir normalement ; tout au plus manifeste-t-il peut-être une certaine activité après une importante dépense alexique. Les leucocytes, qu'on avait d'abord rendus responsables de la production complémentaire, soit par sécrétion, soit par désintégration, paraissent se borner à fournir le quatrième composant.

Il n'est pas impossible que la régulation de la teneur en alexine, sa dépense comme sa régénération soient régies par un mécanisme neuro-endocrinien dont nous ignorons encore totalement le fonctionnement.

L'ETENDUE DE LA PROPRIETE COMPLEMENTAIRE

Les manifestations certaines

Action bactéricide. Quelques effets parasitiques

Bien avant la description du phénomène de Pfeiffer, Von Grohmann, Buchner, Behring et Nissen avaient mis en évidence la propriété bactéricide des sérums exempts de cellules. Buchner avait constaté le premier la thermolabilité du principe bactéricide. Nous avons vu comment Bordet avait eu le mérite de décomposer ce principe en deux facteurs : l'anticorps spécifique thermolabile et l'alexine non spécifique thermolabile. Au cours des recherches effectuées sur le pouvoir bactéricide, il n'a pas toujours été tenu compte de cette distinction et le plus souvent c'est de l'alexine au sens de Buchner (anticorps + alexine de Bordet) qu'il a été question. De plus, nous savons que la transformation granulaire caractéristique de la bactériolyse n'affecte qu'un nombre de germes relativement restreint. Il ne faut pas croire que l'action bactéricide soit limitée pour cela. En effet, il existe de nombreux germes qui, sans se prêter à la bactériolyse proprement dite, sont susceptibles d'être tués ou simplement gênés dans leur développement par l'intervention du sérum frais. La simple fixation du complément qui représente le phénomène général suffit à produire ces effets. C'est dans ce sens le plus large du mot qu'il convient de considérer le pouvoir bactéricide.

Cependant, les actions bactéricides ou même bactériolytiques ne sont pas toutes sous la dépendance de l'alexine. La découverte de principes thermostables comme la lysine β ou la lysine X a permis de décrire des phénomènes lytiques tout à fait indépendants de l'activité complémentaire ; nous en dirons un mot à la fin de ce chapitre.

On peut toutefois affirmer que, d'une façon générale, l'intervention de l'alexine favorise ou permet l'action bactéricide ; la réalisation du phénomène de Pfeiffer *in vivo*, l'expérience de Bordet *in vitro* demeurent les bases de cette conception. D'autres preuves se sont ajoutées depuis : on a examiné les actions bactéricides de divers sérums frais vis-à-vis de germes variables. Nicolle, Jouan et Debains, par exemple, ont montré que le sérum de cobaye frais réduisait le nombre de germes 9 fois sur 10 ; il renferme une alexine particulièrement active et toute une série de bactériolysines naturelles dont la valeur est du reste des plus variables. Personnellement, nous avons pu nous convaincre que l'alexine de cobaye favorisait nettement le pouvoir bactéricide vis-à-vis du colibacille, mais qu'elle restait sans action sur le staphylocoque : un sérum de cheval anti-staphylococcique vieilli présente la même activité bactéricide, qu'on lui ajoute du sérum vieilli de cobaye, du sérum frais de cobaye, du sérum chauffé de cobaye ou du sérum frais de lapin ; donc, le pouvoir empêchant qui s'exerce *in vitro* vis-à-vis du staphylocoque n'est pas le fait d'une manifestation complémentaire, tandis que le colibacille est sensible à une telle action. Le sérum humain frais contient des substances pouvant empêcher le développement du méningocoque (Mackenzie et Martin). Ces auteurs utilisent cette propriété avec succès dans la thérapeutique de la méningite cérébro-spinale, une injection intra-rachidienne de sérum humain frais apportant l'alexine qui demeure relativement déficiente dans le liquide céphalo-rachidien malgré la réaction leucocytaire. Cependant, dans ces actions, il n'est pas fait la part qui revient respectivement aux anticorps spécifiques et à l'alexine. Ranque et Sénez trouvent que le complément est responsable, dans une certaine mesure, de l'action inhibitrice qu'exerce le sang frais sur le développement des germes pathogènes. En effet, l'adjonction de sérum hémolytique anti-humain qui, en présence d'hématies humaines, fixe l'alexine contenue dans le sang ensemencé, accélère nettement la positivité des hémocultures. Plus récemment, Agasse-Lafont, Grimberg et Mutermilch, nous fournissent des renseignements plus précis sur la bactériolyse au cours des hémocultures : ils placent à l'étuve des mélanges de sang, de bouillon et de colibacilles, établis dans des conditions variables de dilution et de nombre de germes ; les auteurs font ensuite des prélèvements successifs à des intervalles variables ; chaque échantillon prélevé est ensemencé en gélose fondue et versé en boîte de

Petri. La numération des colonies ainsi obtenues donne les résultats suivants : le nombre de germes diminue au début graduellement jusqu'à disparition quasi-complète ; puis on assiste soit à un réveil de la culture et à une multiplication énergique des germes, soit à l'absence complète de culture ultérieure ; un délai de trois heures paraît nécessaire pour déterminer le maximum de destruction de colibacilles ; à partir de ce moment, les germes se multiplient sans encombre. Lorsqu'on fait agir sur les colibacilles du sérum de lapin vacciné additionné d'alexine de cobaye, on enregistre la même action retardatrice. Il y a donc une bactériolyse, au cours des premières heures du contact des colibacilles avec le sérum, capable de retarder la culture, indépendamment d'autres facteurs qui pourraient intervenir. Restait à expliquer le réveil ultérieur de la culture. La première hypothèse envisagée par Agasse-Lafont, Grimberg et Mutermilch fut la suivante : les germes qui se remettent à pulluler ne sont-ils pas devenus résistants aux anticorps ? On sait, en effet, que les trypanosomes et certains spirilles, dans les mêmes conditions expérimentales, se transforment aisément en races anticorps-résistantes (Levaditi et Mutermilch, Levaditi et Stanesco) ; quelques expériences ont permis de rejeter cette hypothèse ; elles ont montré l'absence de toute augmentation de résistance des souches de microbes ayant, à plusieurs reprises, survécu à l'action microbicide. Il semblait donc plus logique de donner une autre interprétation à ce phénomène *retardateur* : le réveil de la culture serait dû à l'épuisement rapide d'une des substances bactéricides du sérum et notamment de l'alexine. Effectivement, l'expérience montre qu'au cours de la bactériolyse, le taux de l'alexine baisse rapidement pour disparaître totalement entre la première et la troisième heure, c'est-à-dire précisément au moment où la bactériolyse atteint le maximum de son intensité et après lequel débute le réveil de la culture. Du reste, si l'on ajoute de l'alexine de cobaye à ce moment critique, on arrive souvent à empêcher les germes de se multiplier, à condition, bien entendu, que la dose d'anticorps soit également suffisante.

Ces conclusions confirment donc pleinement les résultats de Ranque et Sénez et montrent bien que l'alexine est capable de détruire complètement les germes quand elle se trouve en quantité suffisante ou de retarder simplement leur pullulation quand elle est épuisée par la bactéricidie des premières heures ; dans ce der-

nier cas, les germes ayant survécu à l'action bactéricide se remettent à pulluler et donnent une culture positive tardive.

Pour se convaincre de l'intervention du couple alexine-anticorps, spécifique dans ces actions destructrices ou retardatrices, il suffit de pratiquer les deux expériences que voici :

1°) Lorsque le sérum humain normal, qui contient une sensibilisatrice naturelle anticolibacillaire, est inactivé par le chauffage, il perd son pouvoir bactéricide vis-à-vis du colibacille, celui-ci est restauré par l'addition de sérum de cobaye.

2°) Un sérum humain frais conservé à la glacière pendant 24 heures avec un excès de colibacilles vivants perd ses anticorps normaux anti-colibacillaires capables de s'unir sur les germes aux environs de 0°, tandis qu'à cette température l'alexine ne pouvant être fixée demeure parfaitement libre ; si on décante ce sérum, il se montre dénué de tout pouvoir bactéricide malgré la conservation de l'alexine.

En outre, les agents qui sont susceptibles d'inhiber l'action complémentaire sont capables d'entraver la bactéricidie : par exemple, le citrate de soude qui empêche la fixation de l'alexine sur les hématies à partir d'une certaine concentration, sans détruire du reste le principe complémentaire (Bordet, Gengou et Gay), favorise nettement le développement des germes du groupe Coli, typhique, dans les hémocultures. Agasse-Lafont, Grimberg et Mutermilch fixent à 30 0/00 le taux optimum pour inhiber l'effet alexinique tout en se tenant au-dessous de la dose antiseptique du citrate de soude ; du reste, si l'on dilue au 1/5 le plasma ainsi citraté, les pouvoirs hémolytiques et bactériolytiques réapparaissent, car en diluant le plasma on diminue en même temps le taux de concentration du citrate de soude.

Pour A. Grimberg, S. Mutermilch, E. Agasse-Lafont et M^{lle} H. Pellier, le mécanisme de l'action favorisante de la bile dans les hémocultures des germes du groupe TAB doit être rapporté à une inhibition d'origine alexique : en dehors du milieu sélectif que constitue la bile, celle-ci gêne l'action bactéricide du sang et c'est de cette façon indirecte que peut s'expliquer en partie le rôle de la bile dans les hémocultures du groupe TAB ; agissant directement sur les germes, la bile, loin d'accélérer la multiplication microbienne, se révèle légèrement antiseptique ; une culture sur bouillon est relativement plus rapide ; mais mélangée pendant une heure au sang humain, la bile annihile presque complètement

l'alexine ; il en est de même de l'alexine de cobaye qui disparaît une heure après l'adjonction d'une quantité de bile égale au dixième du volume total. L'action antialexique et partant antibactéricide de la bile sur le sang humain l'emportant sur sa valeur antiseptique directe vis-à-vis des germes TAB, l'intervention de la bile dans les hémocultures de ce groupe de germes est en définitive nettement favorisante.

L'alexine semble également jouer un rôle important dans la destruction du virus vaccinal ; les immunsérums frais peuvent détruire le virus de la vaccine ; le chauffage supprime cette action, tandis que l'addition de sérum frais restaure le pouvoir virulicide (Gordon, 1925 ; Douglas et Smith, 1930).

Ces divers exemples ne permettent pas de mettre en doute l'intervention du couple anticorps-alexine dans diverses actions bactéricides. Il en est de même dans certains cas en parasitologie ; le pouvoir cercaricide découvert par Culberston dans le sérum de quelques vertébrés peut être rapporté à un processus analogue. En effet, il est impossible de déceler cette action cercaricide après chauffage du sérum ou après une fixation de l'alexine par un système antigène-anticorps ; du reste, l'action cercaricide s'accompagne d'une disparition de l'alexine libre. Les expériences de Tubangui et Masiluñgan avec des cercaires de *Schistosomum japonicum* et *Cercaria Maitimensis tubangui* confirment la conception précédente ; le pouvoir cercaricide du sérum de cobaye est plus marqué chez un cobaye infesté que chez un cobaye sain, car on peut admettre que chez le cobaye infesté l'apparition d'anticorps artificiels renforce nettement la sensibilisation de l'antigène et permet en conséquence une action plus efficace de l'alexine. On est donc autorisé à conclure que la plupart des actes de défense contre les microorganismes sont le résultat d'une action de l'alexine sur des antigènes sensibilisés par les anticorps correspondants ; ces derniers sont plus efficaces quand ils proviennent d'immunisation active, c'est-à-dire quand ils se trouvent chez des animaux en cours d'infection ou déjà vaccinés soit artificiellement, soit par une infection ou une infestation antérieure ; mais à côté de ces sensibilisations artificielles il existe des anticorps naturels se trouvant dans des sérums de sujets apparemment normaux ; il est souvent difficile d'affirmer si ces anticorps sont vraiment naturels, c'est-à-dire transmis héréditairement ou s'ils sont le fait d'une affection inapparente. Quoi qu'il en soit, ils ont pu être mis en évidence

de façon certaine ; ils sensibilisent certaines bactéries à l'action du complément. C'est ainsi qu'on trouve dans le sérum humain normal des sensibilisatrices contre le vibron cholérique (Muir et Browning), des sensibilisatrices anti-Flexner (Gordon et Wormal). Gordon et Carter arrivent à supprimer des sensibilisatrices naturelles par leur fixation à 0° sur des antigènes variés ; le pouvoir bactéricide est d'abord retenu par les germes les plus pathogènes et supprimé en dernier lieu par ceux vis-à-vis desquels l'organisme est le moins sensible, il y a donc une certaine spécificité. Cependant, en dehors de l'action complémentaire, il existe d'autres processus aboutissant à la bactériolyse. Nous avons observé qu'*in vitro* le staphylocoque restait indifférent à l'intervention de l'alexine ; seul l'anticorps spécifique paraît jouer un rôle bactéricide. Des germes tels que la bactériodie charbonneuse, le *bacillus subtilis*, sont insensibles à l'action alexique mais sont par contre détruits par des substances thermostabiles se trouvant dans le sérum de certains animaux comme le lapin par exemple. L'existence de ces substances bactéricides permet à Petterson de classer les germes en deux groupes : 1°) ceux qui sont sensibles à l' α lysine, substance thermolabile qui n'est autre que le couple anticorps-alexine, autrement dit l'alexine au sens de Buchner ; 2°) les bactéries qui ne sont touchées que par une lysine thermostabile nommée β lysine. Cette dernière, outre sa thermostabilité, est beaucoup moins sensible que l'alexine à l'action du vieillissement puisqu'elle se conserve pendant 7 mois dans le sérum de cheval ; elle supporte des variations de pH et de concentration saline beaucoup plus considérables, elle résiste à la dialyse contre eau distillée, elle est contenue dans la partie du sérum précipitable par l'acétone. D'une façon générale, d'après Wulf, les germes Gram négatifs seraient plus sensibles à l' α lysine, tandis que les Gram positifs seraient détruits par la β lysine. Plus récemment, ce dernier auteur découvre un nouveau principe lytique qu'il nomme lysine x. Palle Hjorth trouve que son action s'exerce sur certaines souches de microorganismes et de bacilles de Pfeiffer. Plus thermostabile que l'alexine, elle est moins altérée par la lumière ultra-violette ; sa température critique varie entre 60° et 100° selon les germes qu'elle attaque ; elle existe dans les fractions albumine et globuline ; elle n'est pas inactivée par l'ammoniaque mais elle est sensible à l'action du venin de cobra. En somme, ces dernières substances ne paraissent pas bien définies ; lysine β et lysine x se différencient nette-

ment de l'alexine de Buchner ou α lysine par leur thermostabilité relative ou leur moins grande labilité d'une façon générale ; mais il semble bien difficile de distinguer lysine β et lysine x , tout au plus peut-on admettre que la lysine x est une variété de la lysine β ; car un sérum dont on a retiré la lysine x par chauffage à une température de 90° (en ayant soin de diluer pour éviter la coagulation) se trouve réactivé par l'adjonction de sérum contenant la lysine β . La variation des températures d'inactivation donne une idée de l'imprécision dans laquelle on se trouve quant à la définition de ces substances. Du reste, il a été prouvé que, selon les cas, des souches différentes d'un même germe peuvent être attaquées par la lysine α ou β ; tel est le cas du Colibacille (Gunnar Fischer).

Dans l'étude des actions parasitocides, on retrouve également ces différences de processus. Si le pouvoir cercaricide paraît nécessiter l'intervention de l'alexine dans le cas des cercaires par exemple, la propriété parasitocide des sérums humains vis-à-vis de *Castellani evansi* semble tout à fait indépendante du pouvoir complémentaire comme l'a montré Acquaviva Coppola.

L'HÉMOLYSE.

L'étude de l'hémolyse complémentaire a déjà été traitée dans un chapitre précédent ; nous avons vu comment Bordet avait appliqué aux globules rouges sa célèbre théorie des deux substances édictée pour expliquer la bactériolyse complémentaire. Nous savons que cette action lytique dépend de deux facteurs, l'un thermostable : l'anticorps spécifique ; l'autre thermolabile : l'alexine, non spécifique. L'apparition d'anticorps ou sensibilisatrices peut être provoquée artificiellement par l'injection d'antigène *in vivo*. Mais à côté de cet anticorps artificiel, particulièrement actif, il existe des sensibilisatrices naturelles vis-à-vis des hématies d'espèces hétérologues, dont le degré d'activité est beaucoup plus faible, variant du reste suivant les espèces animales. C'est le couple sensibilisatrice naturelle - alexine que Buchner désignait sous le nom d'alexine, alors que, rejoignant la conception de Bordet, Ehrlich et Morgenroth décomposaient le complexe en ses deux éléments : anticorps spécifique thermostable et alexine au sens de Bordet. Il est facile de séparer ces deux facteurs : par le chauffage d'une demi-heure à 56° on supprime l'alexine de Bordet tout en conservant la sensibilisatrice naturelle. En faisant agir à 0° des hématies hétérologues non sensibilisées sur le sérum à examiner, la sensibilisatrice naturelle se porte sur les globules rouges antigènes et

s'y fixe, mais l'alexine ne pouvant intervenir à cette température demeure libre (Gard et Von Euler, Scartozzi, Osborn). Dans la réaction de Hecht-Bauer où l'on utilise et la sensibilisatrice naturelle anti-hématies de mouton et l'activité complémentaire, que possède toutes deux le sérum humain, on ne fait pas intervenir autre chose que l'alexine au sens de Buchner ; cette réaction se pratique sans qu'on dose séparément chacun des deux éléments ; c'est pourquoi, bien que plus sensible, elle est moins sûre que la réaction de Wassermann type où l'on connaît les valeurs respectives de la sensibilisatrice artificielle anti-mouton et de l'alexine de Bordet. L'emploi, comme alexine, du sérum de cobaye dénué de toute sensibilisatrice naturelle anti-mouton représente une sécurité supplémentaire (Rubinstein).

In vivo, l'apport d'un système hémolytique (hématies et sérum anti-hématies) dans le torrent circulatoire, l'introduction de sérums artificiellement préparés contre les hématies de l'animal injecté, mais inactivé par le chauffage ou le vieillissement, ou même l'injection de sérums hétérologues chauffés ou vieillis présentant une sensibilisatrice naturelle relativement assez active contre ces hématies, produisent une hémolyse biologique, suivie de chute alexique. Cette chute témoigne de l'utilisation du complément formé par l'animal ainsi traité. Les phénomènes consécutifs à l'introduction d'hématies hétérologues relèvent du même mécanisme. L'expérience de Hyde sur la patte isolée de grenouille est encore plus démonstrative. Nous avons rappelé brièvement ces faits pour prouver l'intervention certaine de l'alexine dans quelques phénomènes hémolytiques biologiques. Enfin, c'est par un mécanisme analogue que peuvent s'expliquer certains petits accidents survenant après des transfusions pratiqués avec le sang de donneurs universels ; celles-ci sont parfois suivies d'un phénomène de choc avec chute alexique passagère, puis tout rentre dans l'ordre en quelques heures. On peut se demander si, malgré l'absence d'agglutination assez importante pour être visible à l'examen sur lame, il n'existe pas une sensibilisation très légère des hématies étrangères qui entraîne une fixation rapide de l'alexine ; ce phénomène s'arrêterait rapidement, les faibles quantités d'anticorps étant rapidement saturées.

ALEXINE ET ANTIGÈNES NON STRUCTURÉS. ALEXINE ET TOXINES.

La fixation de l'alexine, d'abord mise en évidence sur des éléments organisés (globules rouges ou microbes), s'effectue égale-

ment sur des complexes antigène-anticorps amorphes. Gengou a montré que l'injection de protéine étrangère (lait de vache) à des lapins produisait dans le sérum de ces animaux des anticorps qui confèrent à ces protéines le pouvoir de fixer l'alexine ; cette action est nettement spécifique car, dans les mélanges contenant du sérum frais alexique de lapin non traité et l'un de ces antigènes, l'alexine n'est pas sensiblement absorbée ; on peut provoquer une hémolyse ultérieure par addition d'hématies sensibilisées ; au contraire, si l'on opère avec du sérum frais de lapin immunisé contre ces protéines, il y a fixation de l'alexine et absence d'hémolyse ultérieure malgré l'intervention d'un système hémolytique.

Les précipités toxine-antitoxine ont la propriété de fixer l'alexine à très haut degré ; ce phénomène intéresse les toxines bactériennes et parasitologiques (liquide hydatique), mais dans ce dernier cas, la spécificité est beaucoup moins étroite, les épreuves de déviation du complément donnent plutôt lieu à des réactions de groupes. Les précipités spécifiques perdent leur pouvoir d'adsorber l'alexine quand ils sont chauffés à 100°. La fixation de l'alexine se fait d'autant mieux que les précipités sont plus ténus. C'est pourquoi elle s'effectue plus facilement et plus abondamment sur les précipités « *in statu nascendi* » et ceci explique la netteté du phénomène lorsqu'il se produit *in vivo*. L'injection de sérums antitoxiques *in vivo* amène souvent une chute alexique assez marquée. G. et A. Magheru (1929) ont fait des constatations expérimentales qui apportent quelques précisions à ce sujet : l'injection intra-péritonéale chez le cobaye de quelques toxines, comme les toxines dysentérique, diphtérique ou tétanique, provoque la formation d'un exsudat riche en complément. Si ces toxines sont injectées en même temps que les sérums antitoxiques correspondants, le complément disparaît des exsudats ; tandis que les injections témoins de sérum normal n'entraînent aucune diminution alexique. Ces faits démontrent que les complexes toxines-antitoxines fixent le complément *in vivo* et tendent à faire admettre que c'est là le mécanisme utilisé par l'organisme pour se défendre contre les toxines. Ce mécanisme est d'ailleurs fort obscur ; on connaît encore mal les modifications subies par les précipités quand ils fixent l'alexine ; tout au plus a-t-on pu constater par des moyens optiques (photométrie : Douris et Mondain, ou interférométrie : Jonnard) une action dispersante de l'alexine vis-à-vis des précipités ; il n'a pas été possible de découvrir à quelle altération chimique corres-

pondait ce changement de densité optique. On peut supposer qu'à la suite de la neutralisation des toxines par les antitoxines, les précipités ainsi formés, tout en étant dénués de toxicité au sens bactériologique du mot, n'en constituent pas moins des protéines étrangères vis-à-vis de l'organisme. L'intervention de l'alexine grâce à son action dispersante faciliterait leur élimination. Il est possible que l'alexine ne fasse que parachever l'action des antitoxines en renforçant leur action neutralisante.

Ces hypothèses reposent sur des bases encore bien fragiles.

PROBLÈME DE L'UNICITÉ DE L'ACTION COMPLÉMENTAIRE.

Ce que nous avons dit sur les variations du complément, *in vitro* aussi bien qu'*in vivo*, se rapportait dans la plupart des cas au complément hémolytique. Sa mise en évidence par l'intervention du système hémolytique est si simple que c'est sous cet aspect qu'on étudie le plus souvent la propriété complémentaire. Cependant, la valeur générale des résultats ainsi obtenus repose sur une condition essentielle : l'identité du complément hémolytique avec les compléments qui interviennent dans les autres manifestations (bactériolytiques, antitoxiques). Cette unité du principe complémentaire, défendue par Buchner, Bordet et Gruber, a été niée par Ehrlich, Sachs, Morgenroth, Metchnikov, partisans de la multiplicité des compléments. Bien qu'il faille admettre dans son ensemble la conception de Bordet, les arguments des pluralistes méritent d'être discutés.

Ehrlich et Sachs prétendent que chaque réaction d'immunité nécessite un complément spécifique ; il y a là une façon d'appliquer la fameuse théorie des chaînes latérales. Longcope croit à la multiplicité des compléments ; les variations du complément hémolytique au cours des maladies infectieuses ne correspondraient pas, selon lui, à celles des compléments bactéricides. Pour Metchnikov, les alexines ou cytases représentent des produits cellulaires, il en distingue deux sortes : 1°) la macrocytase, provenant des macrophages de l'épiploon, des ganglions mésentériques et de la rate ; elle servirait à lyser les éléments cellulaires et en particulier les hématies ; 2°) la microcytase, « expression liquide » des leucocytes polynucléaires, s'attaquerait spécialement aux bactéries. Autrement dit, la macrocytase serait une alexine hémolytique, tandis que la microcytase représenterait l'alexine bactériolytique. Une distinction semblable est établie par Mise ; grâce à l'utilisation

d'une méthode de désintégration des organes par des anticorps spécifiques (antifoie, antirate, etc. vis-à-vis de ces organes, cet auteur trouve que le foie produit la plus grande partie des compléments hémolytique et bactéricide, la moelle osseuse intervient surtout dans le cas du complément hémolytique, tandis que la rate servirait à élaborer une alexine plus bactéricide qu'hémolytique. Le manque de sûreté d'une telle méthode, les contradictions existant entre les résultats de Metchnikov et de Mise, nous laissent assez sceptiques quant à la valeur de leurs conclusions.

Rémy a pu constater des différences de thermostabilité entre les alexines bactéricides et les alexines hémolytiques ; mais ne s'agissait-il pas de principes bactéricides autres que l'alexine ? A l'époque des expériences de Rémy, on ne connaissait pas encore les lysines β et X, plus thermorésistantes.

Un fait paraîtrait en faveur de la multiplicité des alexines, même au sein du groupe des compléments hémolytiques : les variations d'activité complémentaire d'un même sérum suivant les systèmes hémolytiques dans lesquels on le fait intervenir. Encore n'y a-t-il là que des différences quantitatives ; cette « appropriation des alexines aux sensibilisatrices et aux antigènes » reste l'argument le plus sérieux des pluralistes ; mais cet argument n'est pas sans défaut, nous en apporterons la preuve plus loin.

Pour toute une série de raisons que nous allons exposer rapidement, la thèse uniciste apparaît comme plus vraisemblable.

Quand on effectue l'analyse du complément bactéricide en suivant les méthodes de fractionnement usuelles (dialyse contre eau distillée, action des acides dilués, de l'ammoniaque, du venin de cobra), on obtient des composants tout à fait semblables à ceux du complément hémolytique (Liefmann, Braun, Noc, Boehncke, Ledingham et Dean, Gordon et Wormall). La modification de Brand affecte aussi bien le complément bactéricide que le complément hémolytique (Brand, Braun et Boehncke). Les effets du vieillissement sont identiques dans les deux cas (Gordon et Hoyle), bien qu'il existe une légère différence quantitative : d'après Mise, l'alexine bactériolytique disparaîtrait avant l'hémolytique. Les actions inhibitrices qu'exerce le citrate de soude s'appliquent aussi bien à la bactériolyse qu'à l'hémolyse. De même le rouge Congo gêne la destruction des bactéries comme il empêche l'hémolyse, cette action empêchante s'effectue cependant avec des doses plus faibles dans le cas de la bactéricidie. Muir et Browning trouvent

que le traitement des sérums par des doses croissantes de bactéries tuées entraîne : 1°) une diminution de l'action bactéricide contre la bactérie mélangée ; 2°) une diminution de l'action bactéricide contre d'autres bactéries ; 3°) une diminution du complément hémolytique. Ces auteurs concluent que la perte de toxicité contre les bactéries est due à la dépense des anticorps naturels, ils suggèrent que l'activité bactéricide est utilisée avant le complément hémolytique : « il y a une moitié du sérum qui possède une affinité spéciale pour les bactéries en général et spécialement adaptée à l'action bactéricide ». Cette notion ne doit pas impliquer que le complément bactéricide est distinct de l'hémolytique, l'intervention des anticorps naturels seule varie. L'expérience de Ranque et Sénez sur la disparition momentanée du pouvoir bactéricide dans les hémocultures, consécutive à la fixation de l'alexine par un système hémolytique (sensibilisatrice anti-humaine et les globules rouges humains du sang de l'hémoculture) serait impossible à réaliser si l'alexine bactéricide était différente de l'alexine hémolytique. En réalité, l'alexine se fixe complètement sur le premier antigène qu'on lui présente, quelle que soit sa qualité, à condition toutefois qu'il soit convenablement sensibilisé. C'est le principe même de la méthode de Bordet et Gengou ; comme le dit fort judicieusement Bordet : « Au surplus, si un antigène quelconque, fortement sensibilisé, n'était point capable de ravir au liquide la totalité de l'alexine, la méthode de diagnostic fondée sur la fixation de ce principe n'aurait jamais pu acquérir de valeur générale ».

Les différences quantitatives entre pouvoirs bactériolytique et hémolytique qui ont constitué des arguments favorables à la thèse pluraliste relèvent souvent de la diversité des qualités antigéniques ou de l'intensité de la sensibilisation des antigènes ; l'appropriation des alexines aux sensibilisatrices ou aux antigènes peut s'expliquer par les qualités chimiques particulières inhérentes à la totalité du sérum d'une espèce donnée et non à l'alexine proprement dite de cette espèce.

Le problème de l'identité ou de la pluralité des compléments bactériolytiques, hémolytiques ou autres ne pourra être résolu avec certitude que le jour où l'on aura isolé le principe complémentaire. En attendant, le phénomène si général de la fixation du complément permet d'admettre que l'alexine est toujours pratiquement la même, qu'il s'agisse d'une hémolyse, d'une bactériolyse, ou de sa fixation sur un complexe antigène-anticorps quelconque.

Relation entre l'action complémentaire et certains phénomènes biologiques

LE COMPLÉMENT ET LES OPSONINES DE WRIGHT.

Quand on étudie les variations respectives de l'alexine et des opsonines de Wright, on est frappé par la similitude des propriétés de ces principes, si bien qu'on a pu soutenir que l'opsonification résultait de l'intervention combinée de l'alexine et d'un anticorps spécial. La mise en évidence de la fonction opsonique n'est pas sans analogie avec celle du principe complémentaire. Rappelons l'expérience de Wright et Douglas (1904) : des leucocytes débarrassés par le lavage de toute trace de protéines sériques se montrent incapables de phagocyter des bactéries en émulsion physiologique ; mais l'imprégnation de ces bactéries par une petite quantité de sérum frais permet cette phagocytose. La substance contenue dans le sérum, rendant les germes plus sensibles à l'action des leucocytes, reçut le nom d'opsonine. Par de nombreux points elle rappelle le principe complémentaire, par d'autres elle se rattache aux sensibilisatrices. Le pouvoir opsonique s'affaiblit considérablement lorsqu'on chauffe le sérum à 55°. L'addition de sérum frais permet d'obtenir une réactivation (Levaditi et Inman, Dean, Neufeld et Bickel). La fixation de l'alexine d'un sérum frais par des hématies sensibilisées, par des bactéries sensibilisées, et d'une façon plus générale par divers complexes antigène-anticorps, entraîne une disparition presque complète de la propriété opsonique. Dans le cas des bactéries, on peut aussi bien dire qu'en s'opsonisant au contact du sérum les antigènes dépouillent celui-ci des matières susceptibles de les impressionner. Les différents facteurs physiques d'inactivation alexique (température, hypertonicité, adsorbants comme le charbon, l'amidon) suppriment également la fonction opsonique (Porges, Gengou). Les cellules de levures détruisent aussi bien les opsonines de Wright que le complément (Neufeld et Huhne). Par les procédés de séparation usuels (dialyse eau distillée, acides dilués), on peut scinder le principe opsonique en *midstück* et *endstück*. De même que pour l'alexine, chacune des deux fractions séparées est dénuée de toute action opsonique, tandis que leur réunion restaure cette activité (Hata, 1908) ; dans le cas d'une réactivation fractionnée, l'intervention de la globuline doit précéder celle de l'albumine (Hata). Utilisant la méthode de fractionnement au CO², Ledingham et Dean parviennent aux mêmes résul-

tats. Ils trouvent, en outre, que dans quelques cas le *midstück* peut exercer une action inhibitrice ; ce fait a été signalé à propos du pouvoir complémentaire. Autres analogies, en dehors du sérum on retrouve en assez grande abondance les opsonines dans les exsudats. Les sérums anti-alexiques sont en même temps anti-opsoniques. La fixation des opsonines sur des systèmes antigène-anticorps s'opère moins facilement à basse température.

D'autre part, le pouvoir opsonique des immunsérums est toujours beaucoup plus élevé que celui des sérums ne possédant pas d'anticorps artificiels ; quand on supprime ces anticorps par des antigènes correspondants, la propriété opsonique devient difficile à mettre en évidence. En solution hypersalée, l'antigène fixe la sensibilisatrice sans absorber l'alexine (Méthode de Wolf). Grâce à ce procédé, Walravens a constaté qu'un sérum frais en présence d'un microbe donné perdait une grande partie de son activité opsonique pour ce microbe, mais la gardait vis-à-vis d'autres bactéries.

Cet ensemble de faits permet de conclure que l'opsonification des germes résulte de la synergie de deux substances : un anticorps spécifique thermostabile et un principe thermolabile tout à fait semblable à l'alexine. L'opsonine des sérums normaux ne serait pas autre chose que de l'alexine de Buchner ; elle représenterait un couple anticorps naturel — alexine de Bordet ; il n'y a rien d'étonnant à ce que son activité soit plus faible que celle des opsonines artificielles obtenues par immunisation active, l'anticorps étant beaucoup plus puissant dans ce dernier cas.

Dans de telles conditions, il était logique d'édifier la théorie suivante : le pouvoir bactéricide résulte toujours de l'action combinée d'un facteur spécifique thermostabile et d'un facteur thermolabile non spécifique. Au cas de germes suffisamment sensibles à la bactériolyse, cet acte se passe entièrement dans le sérum. Au contraire, les germes qui échappent à la lyse directe, comme la bactérie charbonneuse ou le staphylocoque, sont détruits par l'intervention indirecte de l'alexine dans l'opsonification et, partant, dans la phagocytose.

Cependant, l'identité entre opsonines de Wright et couples sensibilisatrice-complément n'est pas aussi absolue que le laisserait supposer la conception précédente.

Gordon et Wormall (1926) montrent que la fonction opsonique ne nécessite pas l'intervention du 4^{me} composant. Les sérums de cobayes et de lapins, traités par l'ammoniaque, n'en demeurent pas

moins opsoniques. Un sérum qui a été en contact avec une suspension de staphylocoques perd, de ce fait, ses pouvoirs complémentaires et opsoniques, mais demeure capable de réactiver, au point de vue alexique, un sérum traité par l'ammoniaque. Ceci prouve que le quatrième composant n'est pas retenu par les microbes relativement insensibles à l'action alexique directe. D'autre part, les staphylocoques ainsi imprégnés de sérums frais et séparés par centrifugation sont rapidement phagocytés par des leucocytes lavés. Par conséquent, l'action d'un complexe comprenant toutes les fractions alexiques moins le composant ammoniolabile est suffisante pour provoquer l'opsonification. La fraction thermolabile de l'opsonine de Wright est donc légèrement différente de l'alexine de Bordet. Cependant, Maltaner (1935) nous apprend que les leucocytes soigneusement lavés contiennent encore le quatrième composant. Dès lors, pourquoi ne pas supposer que les phagocytes ingèrent des cellules enduites d'opsonique (sensibilisatrice + midstück + endstück + troisième composant) et que les leucocytes fournissent eux-mêmes le quatrième composant ? Mais, comme le fait remarquer Osborn, cette conception est en contradiction avec le fait que le quatrième composant doit agir avant l'endstück et vraisemblablement avant tous les autres composants. De plus, la présence d'alexine ne paraît pas absolument indispensable à l'opsonification ; l'anticorps seul peut suffire dans une certaine mesure, l'alexine renforce son effet. Bordet pense que le mécanisme de cette action favorisante peut être rapporté à une augmentation de l'affinité de contact des germes vis-à-vis des leucocytes. Déjà, à propos de la congutination, il déclarait : « C'est quand ils sont chargés d'alexine que les antigènes témoignent pour le protoplasme de l'affinité de contact la plus vive ». Ainsi, l'alexine favorise nettement l'accolement des trypanosomes aux plaquettes chez les animaux traités par chimiothérapie. Le principe complémentaire favorise également l'adhésion des globules rouges sur les plaquettes. On peut se demander si l'alexine n'intervient pas en augmentant l'affinité de contact des antigènes sensibilisés vis-à-vis des globules blancs ; la phagocytose s'effectuerait ensuite plus facilement.

COMPLÉMENT ET ANAPHYLAXIE.

La chute alexique observée au cours des chocs anaphylactiques cliniques ou expérimentaux a posé le problème de l'intervention du principe complémentaire dans la production de ces phénomènes.

Richet lui-même avait soupçonné ce nouvel effet du pouvoir complémentaire. Friedberger (1903-1913) fut plus affirmatif et considéra que le complément jouait un rôle capital dans l'élaboration de « l'anaphylatoxine ». D'autres théories sont venues s'ajouter à celle de Friedberger ; nous les exposerons brièvement à la fin de ce paragraphe ; mais auparavant, nous voudrions rappeler les rapports existant entre pouvoir complémentaire et anaphylaxie.

La clinique nous a appris que les états anaphylactiques aigus (maladies du sérum, œdèmes de Quincke étendus, urticaire géant, réactions d'intolérance à certains médicaments), s'accompagnaient de diminution assez prononcée du titre alexique. Le choc anaphylactique expérimental aboutit au même résultat (Sleeswijk, Friedberger et Hartoch). Cette chute alexique ne peut être rapportée à la seule action des protéines étrangères ; en effet, celles-ci ne provoquent aucune baisse du pouvoir complémentaire lorsqu'elles sont introduites dans des organismes non sensibilisés vis-à-vis d'elles (Angern, 1922 ; Ohkubo, 1939). Parfois même, elles peuvent déterminer une élévation passagère de ce pouvoir (Nolf, Wassermann, Muller). La diminution de complément ne s'observe qu'en cas de réaction anaphylactique typique, réaction survenant chez un sujet déjà sensibilisé. Cette réduction du complément au cours du choc anaphylactique expérimental est un phénomène à peu près constant ; c'est l'avir d'Ohkubo : « Le choc anaphylactique, chez le cobaye, est toujours accompagné de baisse alexique ; celle-ci peut être réactivée par l'addition des composants 1 et 3 ». Ecker, Kovacs et Pillemer (1939) indiquent que sur 50 cobayes sensibilisés au blanc d'œuf et ayant succombé au choc anaphylactique, 5 seulement n'ont présenté aucune baisse alexique après l'injection déclenchante.

Cependant, cette diminution du taux complémentaire pourrait constituer un des éléments du syndrome humoral du choc, l'alexine ne prenant aucune part active à la production du phénomène anaphylactique. A cela nous répondrons que tous les chocs ne produisent pas les mêmes effets sur le pouvoir alexique ; par exemple, le choc provoqué par l'injection de peptone à un organisme non sensibilisé n'entraîne aucune modification du titre alexique ou quelquefois même une légère augmentation. Ceci fait dire à Ohkubo : « La baisse marquée du titre alexique constitue donc un caractère spécifique des phénomènes anaphylactiques ». Doit-on pour cela affirmer la nature anaphylactique du choc traumati-

que, qui s'accompagne toujours de chute alexique ? Même si l'on accepte la proposition d'Ohkubo, le véritable problème reste sans solution : la dépense alexique est-elle une des causes ou ne représente-t-elle qu'une des conséquences du choc anaphylactique ? Quelques faits paraissent en faveur de la première conception.

L'injection de solutions hypertoniques protège l'organisme contre le choc anaphylactique ou amende ses symptômes ; or, l'on sait que ces solutions inhibent les manifestations alexiques. De même, la Germanine, connue pour ses effets anti-complémentaires, présente la même action protectrice ou thérapeutique vis-à-vis du choc anaphylactique (Klopstock). Dans le cas de l'héparine, cette double propriété est beaucoup moins accusée (William et Car ; Kyes et Strauser ; Loewenthal). L'expérience suivante de Friedberger et Ito est encore plus démonstrative : le séjour à l'étuve d'un mélange de protéines, d'anticorps spécifiques vis-à-vis de ces protéines et de sérum frais donne un produit qui peut provoquer une crise anaphylactique typique, par injection à un animal neuf ; mais, ni l'endstück ni le midstück seuls ne sont capables d'élaborer de telles substances. Elles ne peuvent d'ailleurs prendre naissance en milieux hypertoniques, milieux qui paralysent les manifestations de l'activité alexique. L'effet des substances toxiques, ainsi obtenues *in vitro*, est immédiat. Au contraire, les accidents anaphylactiques résultant de l'introduction de protéines étrangères dans un organisme sensibilisé s'effectuent toujours après un certain délai. Pendant cette période, l'animal injecté élabore lui-même la substance déclenchante, grâce à l'intervention de l'anticorps et de l'alexine qu'il fournit lui-même.

Quelle que soit la théorie invoquée pour expliquer le choc anaphylactique, le *primum movens* est toujours une action antigène-anticorps ; on peut supposer que l'alexine complète efficacement cette action.

Friedberger concilie les théories enzymatiques et antigène-anticorps. Il prétend que, dans un premier temps, la protéine étrangère, faisant fonction d'antigène, se sensibilise au contact de l'anticorps. L'antigène ainsi impressionné devient capable d'adsorber l'alexine. Grâce à son pouvoir enzymatique, le principe complémentaire exercerait ensuite, sur l'antigène qui l'a fixé, une influence décomposante ; certains produits toxiques prendraient ainsi naissance. Telle serait l'origine de l'anaphylatoxine, substance responsable, selon cet auteur, du choc anaphylactique.

La fixation de l'alexine est susceptible de s'effectuer *in vivo* ; il est donc à présumer qu'elle peut s'opérer lorsqu'on injecte l'antigène aux animaux possédant l'anticorps. Ainsi, la chute alexique s'expliquerait-elle par une dépense du principe complémentaire utilisé dans l'élaboration de l'anaphylatoxine.

Cette conception est tout à fait analogue à celle de Maignon (1939) : « Dans l'anaphylaxie, il y a dégradation de la protéine injectée par l'action successive de deux catégories de ferments. Ces ferments ne sont pas des catalyseurs, mais des activants de l'alexine qui représente alors le véritable catalyseur. Les ferments anaphylactiques possèdent donc les plus grandes analogies avec les anticorps microbiens dits sensibilisatrices ». Nous ferons simplement remarquer que la sensibilisatrice n'agit pas sur l'alexine, mais sur l'antigène.

Cependant, Bordet réussit à provoquer des chocs anaphylactiques en mélangeant des sérums frais à des matières non protéiques comme le kaolin ou la gélose. Avec du sérum chauffé à 55° il lui est impossible d'effectuer ces produits toxiques. De même, si dans un sérum tiédi on introduit de la gélose dissoute à chaud et insuffisamment refroidie, le liquide ne devient pas toxique. Cependant, une fois constituées, ces « anaphylatoxines » résisteraient jusqu'à 60°.

En outre, le sérum de cobaye dont le complément a été fixé par des hématies sensibilisées est beaucoup moins apte à fournir ces principes toxiques. Si l'on injecte la gélose seule, mais à plus forte dose, on obtient un choc légèrement retardé ; dans ce cas, en effet, l'élaboration de la substance toxique s'effectue *in vivo*. La gélose paraît donc remplacer le complexe antigène-anticorps.

D'après Bordet, la fixation de l'alexine sur ces complexes renforcerait leur affinité de contact vis-à-vis des éléments figurés et en particulier des cellules endothéliales. Cette irritation de l'endothélium peut avoir pour résultat soit d'exagérer le tonus vagal par phénomène réflexe, soit de provoquer le passage d'une quantité importante d'histamine dans le torrent circulatoire.

Cependant, sans vouloir lui enlever toute importance, comme le fait Scott, Besredka et Low sont d'avis que l'alexine n'est pas indispensable à la production du phénomène anaphylactique. Bier a réussi à faire la synthèse d'anaphylatoxine avec des sérums préalablement traités par le rouge Congo. Carlifante (1933) et Lusena

(1935) prétendent que des accidents anaphylactiques peuvent s'observer chez des animaux privés de complément ; mais peut-on affirmer l'état alexique d'un animal ?

Malgré les objections précédentes, les phénomènes anaphylactiques paraissent nettement favorisés par l'un des éléments thermostables du sérum, l'alexine ou une de ses fractions.

RELATION AVEC LA SÉDIMENTATION GLOBULAIRE.

Les phénomènes physiques et, en particulier, les variations de tension superficielle, qui sembleraient régir, dans une certaine mesure, l'activité complémentaire, ont amené à rechercher les relations existant entre alexine et sédimentation globulaire.

Ohtsuka, Terao, Sugiu (1932), Tomasino (1934), Bruschettini (1934) se trouvent d'accord pour admettre que, d'une façon générale, un taux élevé de sédimentation globulaire est associé à un abaissement de l'activité complémentaire. Expérimentalement, Velicogna et Tabusso (1932) constatent que la sédimentation devient plus rapide lorsqu'on chauffe le sérum à 56°. Ces premiers résultats tendraient à prouver que la sédimentation globulaire varierait en raison inverse du pouvoir alexique ou réciproquement. Or, cette relation est loin d'être constante. Par exemple, dans les états rhumatismaux, on observe bien une augmentation de la vitesse de sédimentation globulaire parallèlement à une chute alexique, nous avons constaté et signalé ce fait ; mais, dans la tuberculose, on enregistre des vitesses de sédimentation particulièrement élevées, or, dans ce cas, le titre alexique se trouve souvent augmenté (Scar-tozzi et Griva).

Il est donc difficile de se faire une opinion sur cette question. Du reste, M^{me} Heck-Grossmann, à la fin de sa thèse inaugurale, parvient avec peine à dégager des conclusions assez imprécises : « En première approximation, le pouvoir alexique, d'une part pour ses faibles valeurs forme une zone croissante quand la vitesse de sédimentation diminue, d'autre part pour les valeurs fortes du pouvoir alexique, réalise encore une zone croissante quand la vitesse de sédimentation croît. Il semble y avoir des valeurs de vitesse minima pour une zone donnée du pouvoir alexique ». Nous croyons que, dans ces conditions, il vaut mieux simplement adopter le point de vue de Riggio : il n'existe pas de rapport entre pouvoir complémentaire et vitesse de sédimentation globulaire.

ALEXINE ET COAGULATION.

L'étroite ressemblance qui existe entre certains aspects de l'activité complémentaire et de la coagulation a pu suggérer l'idée de la participation d'éléments communs dans les deux phénomènes. C'est ainsi que Hans Fuchs assimile la prothrombine au *midstück* et que, pour Da Costa Cruz et Vilella, le fibrinogène jouerait un rôle important dans l'action complémentaire. Les arguments de Hans Fuchs sont les suivants : *Midstück* du complément et prothrombine sont tous deux inactivés par chauffage à 56° pendant une demi-heure. Leur activité est pratiquement nulle à basse température. En milieu hypertonique ou sous pression de CO² le plasma oxalaté perd complètement sa faculté alexique ainsi que sa coagulabilité ; ces deux propriétés sont restaurées, quand on ramène le milieu à l'isotonie ou dès qu'on laisse échapper le CO². *Midstück* et prothrombine sont adsorbés par des colloïdes organiques et inorganiques. D'après Fuchs, la prothrombine serait retirée du plasma par l'intervention d'un système hémolytique. L'héparine, qui est anti-complémentaire, n'est pas autre chose que de l'anti-prothrombine. La Germanine, le liquoïde, sont anti-coagulants et anti-alexiques. Enfin, *Midstück* et prothrombine appartiennent tous deux à la fraction globuline du plasma. Horino soutient les idées de Fuchs, mais parle de thrombine au lieu de prothrombine. Quant à Da Costa Cruz et Vilella, ils observent l'existence d'un parallélisme étroit entre la disparition du fibrinogène et la chute complémentaire dans l'intoxication chloroformique ; de même, la régénération alexique consécutive à la saignée, régénération allant même parfois jusqu'à une élévation au-dessus du titre initial, semble liée à une augmentation du fibrinogène. Ce serait là le résultat d'une hyperactivité du système réticulo-endothélial.

Ces arguments fort séduisants reposent parfois sur des observations inexactes.

Les variations du fibrinogène ne correspondent pas d'une façon générale, à celles du pouvoir complémentaire (Riggio). Il est certain qu'en dehors de la chute alexique ou de la diminution du fibrinogène, l'intoxication chloroformique entraîne encore d'autres effets ; l'identité des éléments touchés n'en est pas pour cela prouvée.

Les adsorbants ne produisent pas toujours des actions aussi semblables que le prétend Fuchs : l'alumine adsorbe la prothrombine de façon très efficace, tandis qu'elle touche peu le complé-

ment (Barcroft, Quick et Stanley Brown). De même, le phosphate tricalcique adsorbe difficilement l'alexine ; par contre, même à faible dose, il s'empare énergiquement du serozyme ou de la thrombine (Bordet). Le fait que la prothrombine et le midstück soient contenus dans la fraction globuline ne prouve pas l'identité de ces deux éléments, car tous deux peuvent avoir une origine différente et s'adsorber énergiquement sur la globuline au moment de sa précipitation.

Enfin, l'inhibition du pouvoir complémentaire nécessite des quantités d'héparine beaucoup plus importantes que celles qui suffisent à empêcher la coagulation.

Cependant, H.-J. Fuchs ne voit pas là une objection importante et explique le fait de la façon suivante : il considère la prothrombine ou midstück comme ayant de l'affinité pour trois facteurs :

1°) pour l'antiprothrombine ou héparine ;

2°) pour des céphalines (thrombokinas) qui la convertissent en thrombine destinée à la coagulation ; (normalement, la céphaline se trouve en quantité trop faible pour séparer la prothrombine de l'antiprothrombine ; mais sous l'effet de modifications comme celles provoquées par la saignée, les céphalines provenant des plaquettes et du système réticulo-endothélial passeraient dans le sang circulant et seraient alors capables de libérer la prothrombine et de la transformer ; il est à remarquer que des modifications du même ordre relèvent le titre alexique) ;

3°) affinité du midstück ou prothrombine pour les hématies sensibilisées.

Tel est le schéma de Fuchs que nous empruntons à Osborn. Si l'on peut prouver que l'attraction exercée par les hématies sensibilisées est plus grande que celle qu'entraînent les céphalines, il s'en suivra qu'il faudra plus d'héparine pour inhiber l'hémolyse que pour empêcher la coagulation. Fuchs croit apporter cette preuve : les globules rouges de lapin, soit hémolysés par l'eau distillée et additionnés ensuite de sérum frais, soit hémolysés par un mélange de sensibilisatrice et d'alexine, stimulent la coagulation du plasma oxalaté ; dans cette expérience, les globules rouges joueraient le rôle de cytozyme ou thrombokinase. Si les globules sont fortement sensibilisés d'avance, la prothrombine est utilisée d'abord comme complément dans l'hémolyse et ensuite dans la

coagulation. Si, au contraire, la lyse est lente (hématies peu sensibilisées), la prothrombine est fixée de façon irréversible sous forme de thrombine dans la coagulation et l'hémolyse s'arrête par suite de l'épuisement de la prothrombine qui ne peut plus intervenir en tant que *midstfick* du complément.

Ces faits ne permettent pas de rejeter l'objection de Lusena basée sur la possibilité d'une coagulation après fixation du complément. Bordet, d'autre part, affirme que le sérozyme n'est pas adsorbé par les antigènes sensibilisés, tandis que pour Barcroft, Quick et Stanley Brown, la transformation de prothrombine en thrombine n'a pas d'effet sur le complément.

Le hasard nous a mis sur la voie d'intéressantes observations qui permettent d'éclairer quelque peu cette discussion : mesurant l'activité alexique du plasma citraté, nous avons pu observer des hémolyses dont la marche mérite une courte description. Après avoir distribué des doses croissantes de plasma alexique citraté, on ajoute une quantité constante d'hématies normalement sensibilisées et on égalise les volumes totaux par de l'eau physiologique. La constitution de ces mélanges amène une dilution du plasma citraté et, partant, une diminution de concentration du citrate de soude ; dans ces conditions, il se forme un gel assez fluide résultant d'une coagulation plasmatique. Ce gel est légèrement trouble, par suite de la présence d'hématies non hémolysées ; à la partie inférieure du tube se trouve un coagulum de fibrine. Après 20 minutes d'étuve, l'hémolyse s'effectuant complètement dans les tubes contenant une quantité suffisante d'alexine, le gel contenu dans ces tubes s'éclaircit par suite de la fonte des éléments figurés ; le coagulum fibrineux persiste, mais devient plus clair. Au contraire, le gel reste trouble dans les tubes où la quantité de plasma citraté est inférieure à l'unité alexique. Ceci prouve donc que, malgré les affirmations de Fuchs, la coagulation ne prive nullement le plasma de son pouvoir alexique, même en présence d'hématies moyennement sensibilisées. La simple fixation de l'alexine n'est du reste pas davantage entravée par une coagulation plasmatique antérieure. Par suite de la pénurie de cobayes, nous avons été amené à utiliser le plasma citraté humain comme source d'alexine dans diverses réactions de déviations du complément (soit réaction de Bordet-Gengou avec antigènes microbiens, soit Bordet-Wassermann). Les résultats obtenus (90 cas) étaient pleinement concordants avec ceux des réactions témoins effectuées au moyen d'alexine fraîche de sérum humain

(à B. W. négatif) ou de cobaye. En effectuant le mélange du premier temps de la réaction dans les proportions suivantes : antigène 0 cc., 2 + 2 unités alexiques + 0 cc., 15 de sérum à examiner + Q. S. d'eau physiologique pour compléter le volume total à 1 cc., 25, la concentration du citrate de soude diminue de façon telle qu'il se produit une coagulation plasmatique rapide.

Malgré cette coagulation et cet état physique de gel, la fixation de l'alexine s'effectue tout à fait normalement. En effet, si, après avoir laissé ce gel une heure à l'étuve, on introduit un système hémolytique, on obtient, après un nouveau séjour à l'étuve (d'une demi-heure cette fois), un gel clair, témoin d'une hémolyse, dans le cas d'un sérum négatif et un gel trouble dans le cas d'un sérum positif. Ceci ne fait que confirmer nos premières constatations : l'activité alexique, dont la fixation n'est qu'une des manifestations, peut très bien s'effectuer après la coagulation. Or, une série d'expériences nous a montré que la réciproque se vérifie : si la coagulation plasmatique n'entraîne pas d'épuisement alexique, la fixation de l'alexine ne modifie nullement la coagulation.

Si on effectue le mélange des constituants du premier temps d'une réaction de Bordet et Gengou sans étendre le volume à 1 cc au moyen d'eau physiologique, la concentration de citrate de soude reste suffisante pour empêcher toute coagulation ; elle demeure cependant inférieure au taux qui inhibe la fixation du complément (taux fixé à 30 p. 1.000). Après avoir laissé ce mélange liquide une heure à l'étuve, on introduit le système hémolytique ; c'est alors seulement que se produit la dilution suffisante du citrate de soude pour permettre la coagulation. On replace ensuite une demi-heure à l'étuve, après quoi on lit l'hémolyse. Les résultats ainsi obtenus sont en tous points semblables à ceux que donne la méthode précédente ou la technique habituelle avec alexine sérique fraîche. Mais, du point de vue qui nous intéresse, le fait le plus remarquable est que dans tous les cas, positifs comme négatifs, c'est-à-dire qu'il y ait fixation de l'alexine dans le premier temps de l'épreuve ou absence de fixation, la coagulation apparaît de la même façon au cours du second temps. On obtient toujours finalement un gel, un gel trouble quand il y a eu fixation préalable, un gel clair dans le cas de sérum négatif.

On peut donc affirmer que la coagulation ne modifie pas le phénomène de fixation et que réciproquement la fixation n'empêche aucunement la coagulation. D'une façon plus générale, l'acti-

tivité complémentaire ne semble nullement gênée par une coagulation antérieure, la suppression de l'alexine libre n'empêche pas davantage la coagulation. Dans de telles conditions, il est difficile d'admettre une étroite parenté entre les éléments qui régissent ces deux propriétés. Du reste, cliniquement, des malades dont le plasma est anticomplémentaire ont un temps de coagulation normal (Quick) et réciproquement les hémophiles ne présentent pas de titres alexiques modifiés. Néanmoins, il serait intéressant de compléter les travaux de Fuchs par une étude des variations alexiques sous l'influence de la vitamine K. Nous savons, en effet, que celle-ci peut être assimilée à la prothrombine. Nous croyons que ce serait là le moyen de trancher définitivement la question de l'identité du midstück et de la prothrombine. Nous nous proposons d'entreprendre ces recherches dès que les circonstances nous le permettront.

COMPLÉMENT ET CONTRACTION MUSCULAIRE.

Osborn rapporte brièvement la théorie, pour le moins originale, de H. -J. Fuchs et Kraus, qui fait intervenir le midstück du complément dans la contraction musculaire. Ces auteurs, constatant la production d'une opacité des tissus chez certains animaux inférieurs pendant la contraction musculaire et considérant la faiblesse de la vitesse de coagulation du sang contenu dans le muscle au repos, pensent que la contraction musculaire peut s'expliquer par une coagulation réversible. La présence d'une légère augmentation de prothrombine dans le plasma circulant pendant la contraction d'un cœur isolé traité par la fraction globuline du sang, l'antagonisme de l'héparine vis-à-vis de cet effet, font conclure à Fuchs et Kraus que la prothrombine et, de ce fait, le midstück du complément, entrent en jeu dans le processus de la contraction musculaire. Nous n'avons pas besoin d'insister sur la fragilité d'une telle hypothèse. Déjà, l'intervention de la prothrombine dans la contraction musculaire paraît bien problématique et comme nous avons démontré d'autre part que midstück du complément et prothrombine étaient loin d'être aussi identiques que le proclamait Fuchs, il ne reste pas beaucoup d'arguments pour attribuer cette nouvelle fonction au complément.

En raisonnant ainsi par analogie, on pourrait étendre indéfiniment le champ de l'activité complémentaire.

ACTION PROTÉOLYTIQUE DU COMPLÉMENT.

Il est possible que l'action antitoxique de l'alexine s'exerce vis-à-vis de toutes les protéines étrangères, qu'elles soient d'origine exogène ou endogène. « La fonction alexique, moyen de défense contre l'adultération protidique », comme l'appelle Maignon, augmenterait considérablement la portée de l'action complémentaire. Selon cette conception, l'alexine, qui ne serait pas autre chose que de la trypsine passée dans le sang et combinée à une globuline, se fixerait sur tous les antigènes, produits microbiens, produits cellulaires, protéines toxiques exogènes ou même endogènes, ayant subi l'action des anticorps (anticorps microbiens ou sensibilisatrices, ferments anaphylactiques). C'est ainsi que l'alexine maintiendrait la composition protidique du sang en exerçant une action destructrice sur tous les protides étrangers ; la présence de ces protides dans le sang ferait apparaître des substances, anticorps ou ferments analogues à une kinase, qui activeraient l'alexine vis-à-vis de ces protides et lui permettraient d'exercer son action lytique en milieu sanguin.

Cette intéressante hypothèse, basée sur l'analogie de l'activation tryptique par l'entérokinase avec l'activation alexique, sera discutée plus loin à propos de la nature de l'action complémentaire ; bien que fort séduisante par certains côtés, elle se prête à la critique sur de nombreux points que nous préciserons.

ALEXINE ET RÉGULATION THERMIQUE.

Les éléments de ce problème ont déjà été exposés à la fin d'un paragraphe réservé aux rapports entre température et alexine *in vivo*. Nous avons vu comment A. Tzanck en avait retourné les données et quels sont les arguments qui permettent d'envisager la possibilité de cette nouvelle fonction. L'alexine représente peut-être un des catalyseurs qui règlent les combustions sous la dépendance d'une excitation des centres thermo-régulateurs. Toutes les actions précédentes, et tout spécialement la destruction des substances étrangères, ne constitueraient que des manifestations particulières de ce phénomène général. Le pouvoir alexique refléterait en quelques sorte « la capacité réactionnelle de l'organisme ». Les bases expérimentales de cette théorie sont encore très insuffisantes ; nous nous proposons de reprendre cette étude dès que la pénurie d'animaux de laboratoire aura cessé.

NATURE DE L'ACTION COMPLEMENTAIRE

Malgré tous les progrès dus à l'étude physico-chimique et physio-pathologique du complément, ce problème si complexe reste sans solution définitive.

L'évolution d'une telle question paraît beaucoup moins avancée que celle qui a trait à la nature des antigènes ou des anticorps, pourtant encore mal connue. Tout au plus en est-on réduit à exposer des théories qui, quoique parfois fort séduisantes, n'en demeurent pas moins autant d'hypothèses invérifiées. Le nombre de ces théories suffit à prouver l'état d'ignorance dans lequel nous nous trouvons quant à la qualité et quant au mécanisme de l'action complémentaire. Cependant, si les interprétations changent, les faits expérimentaux restent et peuvent servir de point de départ à des recherches ultérieures et à des conceptions plus fécondes. C'est pourquoi il ne nous semble pas inutile de les indiquer.

L'alexine est-elle une substance bien définie ?

Nous avons déjà partiellement répondu à cette question au début de notre travail. Quoique n'ayant pas encore, à ce moment, les éléments suffisants pour la résoudre, nous avons été obligé d'en aborder l'étude, car nous devons, avant toute discussion, définir exactement les diverses fractions alexiques sur la base desquelles ont été effectuées la plupart des travaux se rapportant au pouvoir complémentaire.

Ces méthodes de séparation, sur lesquelles nous ne reviendrons pas, nous avaient paru un peu artificielles et souvent trop empiriques. Elles ont néanmoins permis d'établir une notion fondamentale : la propriété alexique ne peut être attribuée à une seule fraction du sérum, mais résulte de la participation de plusieurs constituants, « composants », plus ou moins liés aux diverses fractions du complexe sérique.

Cette conception n'est pourtant pas admise par tous les biologistes. Bronfennbrenner et Noguchi soutiennent que l'alexine est une substance unique dont l'activité très sensible, à pH moyen,

peut être abolie par un léger excès basique ou acide. Ferranti adopte ce point de vue et tire ses arguments d'une intéressante expérience que nous avons répétée : la caséine adsorbe très facilement l'alexine. Après avoir pratiqué cette adsorption au moyen d'une caséine en solution, on précipite celle-ci par passage en milieu faiblement acide ou simplement par le froid, le précipité entraîne l'alexine qui reste fixée sur lui ; cette fixation résiste à plusieurs lavages ; or, si on redissout le précipité en milieu basique (borate de soude à 1 %) et si on le reporte en solution physiologique au volume primitif, le liquide ainsi obtenu possède une activité complémentaire presque aussi élevée (75 à 80 %) que celle du sérum initial. Cependant, on est en droit de donner une autre interprétation au phénomène précédent ; le complément peut très bien s'adsorber en totalité et résister ensuite à l'action de lavages répétés, sans qu'il représente nécessairement une substance chimique unique et bien définie ; les complexes sériques se prêtent très facilement à ce genre d'adsorption.

Doladilhe arrive à localiser la fonction alexique dans une fraction du sérum isolé par lui en 1936, et qu'il appelle la « protéine visqueuse ». Quand on reprend la globuline d'Hofmeister (protéine sérique qui précipite complètement du sérum en présence de sulfate d'ammonium à demi saturé) ou les fractions euglobulines et pseudo-globulines séparées, en ajoutant avec précaution une solution isotonique de chlorure de sodium à leur culot de centrifugation, on observe le phénomène suivant : une partie des protéines diffuse peu à peu dans la solution saline, laissant dans le fond une substance translucide, mais plus dense, qui constitue « la protéine visqueuse » ; la partie surnageante et diffusible constitue « l'homoglobuline » ; il suffit de la pipeter délicatement et de reprendre ensuite la substance translucide de la couche inférieure par de l'eau physiologique pour obtenir une protéine visqueuse en solution isotonique de chlorure de sodium. La protéine visqueuse de la globuline d'Hofmeister possède toutes les propriétés de l'alexine.

Fraîches et non chauffées, les solutions isotoniques de protéine visqueuse augmentent notablement le pouvoir alexique d'un sérum sanguin ; chauffées 20 minutes à 56°, elles ne modifient pas sensiblement cette propriété. Non chauffées, mais conservées plusieurs jours à la glacière, elles subissent l'action du vieillissement et deviennent anti-complémentaires. De plus, cette propriété anti-com-

plémentaire est moins accusée si la protéine visqueuse a été préalablement chauffée avant de vieillir ; ce fait s'observe également dans le cas d'un sérum total. La protéine visqueuse fraîche et non chauffée réactive les sérums privés de leur midstück ; chauffée ou vieille elle ne présente plus ce pouvoir réactivant.

Cependant, l'action de la protéine visqueuse ne se limite pas à la fonction midstück, elle est capable de remplacer les deux composants thermolabiles, puisqu'elle réactive un sérum chauffé. La fonction midstück qui, comme nous l'avons exposé, avait été rapportée à la protéine C de Doladilhe, à la suite des travaux de cet auteur en collaboration avec M^{lle} Marguerite Michel, n'est pas due à autre chose qu'à la protéine visqueuse de l'acido-globuline.

La protéine visqueuse de la globuline d'Hofmeister possède, elle, la propriété alexique totale ; elle est susceptible d'hémolyser des globules rouges sensibilisés ; elle ne touche pas les hématies non sensibilisées. Cette propriété est d'autant plus marquée que la quantité de protéine visqueuse est plus grande et qu'elle provient d'un sérum plus riche en alexine ; chauffage et vieillissement lui enlèvent cette qualité.

En dehors de ces propriétés fondamentales, la protéine visqueuse possède encore certains caractères secondaires propres à l'alexine. Elle intervient dans le phénomène de congutination des globules rouges, les modifications physiques produites par le chauffage ou le vieillissement (densité optique, diffusion de la lumière) sont tout à fait analogues à celles qui furent décrites par Lecomte du Noüy à propos de la température critique des sérums.

Comme l'a montré Mazille, la protéine visqueuse est très adsorbante ; elle exerce sur certains colloïdes une action qui favorise leur dispersion par les sérums sanguins frais ; cette propriété est spécifique de la protéine visqueuse, on ne la rencontre ni dans l'homoglobuline ni dans l'albumine ; elle est à rapprocher de l'action dispersante des sérums alexiques mise en évidence par Morel, Douris, Mondain et Beck.

De plus, c'est dans la protéine visqueuse que se situerait l'anticorps hémolytique, celui-ci représente la partie thermostable de la protéine visqueuse.

Il semblerait donc prouvé que la « protéine visqueuse » de Doladilhe posséderait la propriété alexique comme la propriété anticorps. Cependant, cette fraction sérique ne prend naissance qu'après de multiples artifices et l'on peut se demander jusqu'à

quel point elle représente un constituant réel du sérum. De plus, comme l'indiquent Doladilhe et Mazille, elle est douée d'une faculté d'adsorption très remarquable ; on est donc en droit de supposer qu'au moment de sa formation artificielle la protéine visqueuse adsorbe et entraîne avec elle le complexe alexique en entier. Cette critique, que nous nous permettrons de faire, de la conception de Doladilhe, critique du reste particulièrement soutenue par A. Boutaric, peut s'adresser, d'une façon plus générale, à la plupart des méthodes de fractionnement sérique ; des constituants isolés par de tels procédés sont trop artificiels pour qu'on connaisse la place qu'ils occupent réellement dans le complexe sérique.

Il semble donc difficile de rapporter la propriété alexique à une seule protéine. Du reste, le complément paraît lié à d'autres éléments que les protides du sang ; à côté de sa sensibilité aux ferments protéolytiques qui lui fait attribuer une texture albuminoïde, l'inactivation par le benzène ou par le chloroforme le rattache aux lipides.

Au moyen de solvants lipoidiques (alcool, acétone), Belfanti isole du sérum de cobaye une substance thermostable qui contient du phosphore et de la choline ; cette substance présente en milieu alcalin une certaine activité hémolytique, mais elle diffère de l'alexine par sa thermostabilité et par sa faculté d'hémolyser aussi bien les hématies non sensibilisées que sensibilisées. Pour Brooks, le principe lytique du complément serait une lécithine qui serait transformée en composé hémolytique par une lécithase. Cette hypothèse est loin d'être démontrée ; elle ne fait pas intervenir l'action des protéines.

Il est difficile de dissocier les lipides des protéines. Comme l'ont montré Mousseron et Huc, si, au cours du vieillissement des sérums à 17°, les modifications du complexe lipo-albuminique sont peu importantes, l'altération subie par le complexe lipo-globulinique est, par contre, considérable. De leur côté, Macheboëuf et Tayeau considèrent que les euglobulines sont des cénapses lipido-protéiques qui ne doivent leur insolubilité en eau pure qu'aux lipides liés à ces complexes pour les constituer. D'autre part, il est infiniment probable que les constituants minéraux du sérum, en particulier le calcium et les sels de sodium, ont leur part d'activité dans la fonction alexique. La nécessité de leur présence même lorsque les conditions d'isotonicité sont assurées en est une preuve suffisante.

Dans ces conditions, il ne semble pas que l'alexine soit une substance bien définie, mais plutôt un complexe protéines-lipides-sels du sérum. Si nous employons souvent les termes de principe, pouvoir, propriété complémentaire, c'est bien pour marquer l'imprécision de nos connaissances sur la texture du complément.

**L'activité complémentaire doit-elle être rapportée
à un phénomène physique ?**

L'influence de la concentration saline sur l'action alexique, les modifications produites par le chauffage à la température critique, la facilité avec laquelle s'adsorbe le principe alexique, ont pu faire penser que l'activité complémentaire était le résultat de phénomènes purement physiques, comme les variations de la tension superficielle. Celle-ci diminue en effet parallèlement à l'inactivation complémentaire, au cours du chauffage à 56° ou par simple vieillissement à température ordinaire ; d'autre part, l'inactivation par la lumière ultra-violette s'accompagne d'une chute de la tension superficielle (Brooks).

Cependant, ce parallélisme est loin d'être la règle. L'addition de sérum anti-complémentaire en quantité suffisante pour s'opposer à l'intervention alexique ne modifie nullement la tension superficielle (Traube) ; de même l'inactivation, réversible, par les solutions hypertoniques n'est suivie d'aucun abaissement de la tension superficielle (Hecht, 1923). Schmidt, à la suite d'une étude très poussée, conclut que tension superficielle d'un sérum et activité complémentaire sont deux phénomènes indépendants. Du reste, une expérience personnelle nous paraît assez convaincante : le sérum de cobaye très riche en alexine présente une tension superficielle analogue à celle du sérum de lapin pourtant beaucoup moins actif. Comme l'a montré Segale, un mélange à parties égales de sérum chauffé et de sérum non chauffé a une tension superficielle normale, tandis que l'activité complémentaire est réduite de 50 % ; en outre, la chaleur entraîne la formation d'éléments semblables à des micelles et décelables à l'ultra-microscope, ces éléments isolés par centrifugation et ajoutés à du sérum frais produisent une forte chute de la tension superficielle sans diminuer le pouvoir complémentaire. Il semble donc que les deux phénomènes soient relativement indépendants ; une modification de la tension superficielle n'entraîne pas nécessairement un changement d'activité alexique et, réciproquement, une inactivation du complément

ne s'accompagne pas toujours de variation de la tension superficielle. Les seuls cas où les deux propriétés paraissent touchées de façon concomitante sont en rapport avec des changements de structure physico-chimique importants, comme ceux que produisent le chauffage à température critique, l'irradiation par les rayons ultra-violetes ou le vieillissement. La lésion est globale, elle porte sur le complexe sérique ; en conséquence, elle entraîne une véritable destruction irréversible de l'alexine aussi bien qu'une chute de la tension superficielle ou qu'une modification de la conductibilité électrique, mais rien ne prouve que ces trois phénomènes soient liés entre eux par une relation de cause à effet.

Les modifications qui s'effectuent à la température critique du sérum ont été particulièrement étudiées par Lecomte du Noüy ; nous les avons décrites à propos de l'action de la chaleur, elles s'appliquent aussi à celles que produit le vieillissement. La diminution de la viscosité n'est que la traduction directement visible d'une série de changements de structure plus intimes et plus profonds entraînant une augmentation de l'absorption de la lumière, de la diffusion de la lumière, du pouvoir rotatoire, du facteur dépolarisant. « Le pouvoir complémentaire est une propriété physico-chimique de la molécule de sérum non chauffé que le chauffage, par suite de l'absorption d'eau sur les groupes actifs ou simplement par suite de l'écartement subi par certains groupes chimiques, détruit plus ou moins » (Lecomte du Noüy). Mais de l'aveu même de son auteur, cette conception n'explique pas le phénomène de régénération si caractéristique du pouvoir alexique. Comment l'addition d'une faible quantité de sérum frais peut-elle restaurer un état physico-chimique préalablement bouleversé par l'action de la chaleur ?

Lecomte du Noüy répond à cette objection en s'appuyant sur un fait expérimental mis en évidence par un de ses élèves, Seelich : 1 cc de sérum fixe, dans des conditions déterminées, 7 cc d'éther ; 1 cc de sérum chauffé 10 minutes à 57° n'en fixe plus que 4 cc 5. Mais si au sérum chauffé on ajoute 5 centigrammes de sérum frais, le pouvoir de fixation de l'éther est ramené à 7 cc. Ce phénomène purement physico-chimique et totalement différent de la réactivation biologique est cependant identique au point de vue de son mécanisme.

Il se peut que des actes physiques expliquent partiellement certaines manifestations de l'activité alexique, l'influence de la concen-

tration saline en est une preuve ; de même, la fixation de l'alexine dans la réaction de Bordet-Wassermann ne peut plus être rapportée à une réaction purement chimique depuis que Marie, Levaditi et Armand Delille ont pu effectuer ces réactions avec des antigènes non spécifiques. Il s'agit en réalité d'une adsorption de l'alexine sur les floculats des sérums de syphilitiques. La réaction de Wasserman ne traduit en somme que la propriété qu'ont les sérums syphilitiques de flocculer en présence de certaines substances appelées improprement antigènes. Mais il n'y a là qu'un aspect assez particulier de la propriété alexique. La nature purement physique des phénomènes bactériolytiques, par exemple, semble plus difficile à accepter.

En conclusion, il n'est pas douteux que l'activité complémentaire réclame un état physique particulier. La fonction complément dépend, en effet, de plusieurs facteurs : albumine + globuline + lipoïde et électrolytes. Tout changement de l'état physico-chimique d'un de ces facteurs inactive le complément, toute cause capable de bouleverser l'équilibre colloïdal du sérum, comme l'agitation, par exemple, réduit l'activité du principe complémentaire. La complexité de structure de l'alexine suffit à expliquer sa susceptibilité aux divers agents physiques. L'existence d'un état physique convenable est donc nécessaire à l'intervention de l'alexine, mais les phénomènes physiques ne semblent pas expliquer à eux seuls toutes les manifestations de la fonction complémentaire.

Le complément agit-il biochimiquement comme une enzyme ?

La trypsine a besoin d'être activée par l'entérokinase de Pavloï pour exercer son action hydrolysante. Quelques auteurs parmi lesquels Ehrlich, Fuchs et plus récemment Maignon, ont fait appel à l'analogie de cette activation avec celle du pouvoir complémentaire pour attribuer à l'alexine une nature enzymatique.

Un certain nombre de faits plaident en faveur de cette conception.

Les enzymes sont thermolabiles ; leur action est hautement spécifique ; en cela, elles se rapprochent de l'alexine au sens de Buchner, c'est-à-dire du complexe anticorps spécifique-alexine de Bordet ; leur structure colloïdale est relativement fragile ; de faibles quantités de ces principes suffisent à produire de fortes modifications des antigènes. Les courbes d'activité enzymatique sont assez superposables aux courbes d'hémolyse complémentaire ;

dans la partie moyenne de la courbe la quantité d'hémoglobine libérée est à peu près proportionnelle au temps, à la fin la réaction se ralentit, son départ est également assez lent. Ehrlich pensa que la destruction des protéines étrangères du sang était due à une adaptation d'un mécanisme enzymatique normal et considéra que le métabolisme des aliments et les processus de destruction des bactéries dans le sang relevaient de phénomènes essentiellement semblables. C'est également l'opinion d'Ainley Walker : « Les ferments sont des corps à double propriété, l'une amboceptrice spécifique servant d'intermédiaire, l'autre représentée par une kinase non spécifique ou complément qui provient de multiples sources. La bactériolyse et les phénomènes similaires ne sont que des cas particuliers d'une réaction physiologique générale, dont le type est donné par l'action des enzymes normales ». Cet auteur réussit à réactiver de l'amylase chauffée par l'addition de sérum sanguin frais. Plus récemment, Blacklock, Gordon et Fine découvrent que l'addition de sérum sanguin frais accélère l'action de l'invertase, le sérum chauffé est impropre à produire cet effet favorisant. Tous ces faits tendent donc à assimiler l'action alexique à un processus enzymatique. Cependant, on a pu avancer quelques arguments contre cette conception.

Le couple complément ambocepteur semblerait obéir à la loi des proportions définies ; or, en théorie, une quantité donnée de catalyseur est capable de transformer des quantités illimitées de substances soumises à son action pendant un temps indéfini. En réalité, une enzyme comme la trypsine ne s'attaque qu'à une quantité limitée de substance car, au cours de l'hydrolyse, il se forme des produits qui inhibent l'action enzymatique ; c'est du reste ce qui se passe au cours de l'hémolyse, n'avons-nous pas dit que l'hémoglobine était anti-complémentaire ?

Un fractionnement par le gaz carbonique ou au moyen d'un autre artifice ne saurait s'appliquer à une enzyme ; la séparation du sérum en éléments inactifs et la restauration de l'activité complémentaire par la réunion de ces éléments restent des phénomènes bien particuliers à l'alexine. A cela, on peut répondre que le support de l'enzyme peut très bien être constitué par une seule des fractions alexiques et non par le complexe tout entier. L'action enzymatique ne représenterait qu'une des phases de l'action complémentaire totale qui résulterait nécessairement de l'action com-

binée de toutes les fractions y compris celles qui n'ont pas de propriété enzymatique.

La théorie enzymatique s'appuie sur la désintégration des protéines, désintégration qui aboutirait à la digestion des protéines étrangères ou à l'élaboration de produits tels que les poisons anaphylactiques ; or, Bordet fait observer qu'on n'a jamais pu mettre en évidence de tels produits de désintégration à la suite d'une intervention du principe complémentaire. Dick a cependant pu enregistrer une légère augmentation des acides aminés après l'hémolyse, par rapport à des témoins ne contenant pas de complément. Les variations de la formol-titration seraient assez nettes. On n'a pas réussi jusqu'à présent à déceler la formation de produits de déchet dus à une action lipasique au cours des phénomènes alexiques.

Enfin et surtout, l'analogie entre les complexes anticorps-complément et les couples kinase-enzyme est relativement inexacte. En effet, l'entérokinase, par exemple, agit sur le suc pancréatique en transformant le proferment qu'il contient en trypsine active, mais la sensibilisatrice ne modifie en rien l'alexine ; son intervention porte essentiellement sur l'antigène qu'elle rend vulnérable aux effets de l'alexine. Cependant, une expérience de Fuchs s'oppose aux données classiques et démontre dans une certaine mesure l'identité des complexes que nous venons d'envisager. Pour cet auteur, l'amylase posséderait une partie spécifique thermolabile semblable au complément ; la partie thermostable est capable de sensibiliser l'amidon tout comme un sérum riche en anticorps sensibilisateur modifie l'antigène correspondant. L'amidon ainsi traité isolé par centrifugation peut être hydrolysé par du sérum frais ; d'après Fuchs le midstück serait responsable de cette réactivation. Cette expérience représente donc un premier pas vers la vérification de la nature enzymatique du phénomène complémentaire.

Mais, même en admettant cette conception, il est difficile de savoir quelle catégorie d'enzyme est responsable de l'action alexique.

Certains auteurs ont prétendu qu'il s'agirait d'une lipase ; le complément interviendrait, par exemple, en dissolvant l'enveloppe lipoïdique des hématies, il serait du reste plus exact de parler du stroma lipoïdique des hématies. Jobling et Bull constatent un certain parallélisme entre les activités lipasiques et complémentaires. Brooks base sa théorie de la régénération continue de l'alexine

sur l'intervention d'une lipase : la substance « precursor » inactive contenue dans la lécithine serait transformée par une lécithase analogue à la lipase du venin de cobra en substance active du type « lysocithine » (Fourneau), laquelle à son tour serait rendue inactive par la mise en liberté du deuxième acide gras. D'après Bellanti, cette inactivation serait due à l'intervention d'un phosphatide type poison de guêpe qui dégraisserait totalement le complexe complémentaire.

Olsen et Goethe attribuent l'activité lipasique à l'endstück ; un sérum traité par CO_2 donne un précipité de globuline exempt de lipase, le liquide surnageant contient ce ferment. Les hématies normalement invulnérables seraient rendues sensibles à l'action lipolytique de l'endstück par l'intervention de l'anticorps et du midstück : c'est ainsi que se produirait l'hémolyse.

Cependant, complément et estérase n'agissent pas toujours parallèlement, un sérum ayant son complément inactivé par la chaleur conserve une quantité appréciable d'estérase et même les constituants thermostabiles peuvent être détruits sans perte d'estérase (Gordon et Wormall). Comme nous l'avons déjà signalé, on ne trouve pas de produits de dégradations lipidiques après l'action complémentaire ; Brinkmann et Szent-Györgyi n'ont jamais pu mettre en évidence le moindre accroissement des acides gras après hémolyse complémentaire ; d'autre part, ils arrivent à retirer le complément d'un sérum par des hématies sensibilisées sans diminuer sa richesse en lipase.

Donc, si séduisantes que soient les théories de Brooks et de Bellanti, il est difficile de considérer l'action complémentaire comme le résultat d'une intervention lipasique.

Nous avons dit ce que l'on pouvait penser de la conception de Fuchs assimilant le midstück de l'alexine à un ferment coagulant.

La théorie de Friedberger, reprise récemment par Maignon, paraît plus vraisemblable bien que certains points en demeurent sans explication : l'alexine ne serait pas autre chose que de la trypsine passée dans le torrent circulatoire. L'alexine activée par les sensibilisatrices réalise la destruction, par dégradation, des microbes, des produits microbiens ou des protéines étrangères. Dans l'anaphylaxie il y aurait, d'après Maignon, une dégradation de la protéine injectée par l'action successive de deux ferments, ces ferments étant des activants de l'alexine qui par catalyse favoriserait la production de la substance toxique. La trypsine ne peut exercer son

action protéolytique qu'après activation par l'entérokinase, l'alexine n'entre en jeu qu'après l'action de la sensibilisatrice. Nous avons dit ce qu'il fallait penser de cette analogie. On pourrait, en outre, objecter que l'entérokinase est susceptible d'activer la trypsine contre un grand nombre de protéines, tandis que les sensibilisatrices sont plus étroitement spécifiques. Maignon répond à cet argument en prétendant que « l'entérokinase doit être considérée comme une molécule chimique possédant de l'affinité d'adsorption pour la trypsine et pour la protéine à dégrader, affinité dont le résultat est une concentration à la surface du substrat nécessaire à l'action diastasique ; on comprend qu'en milieu aqueux, milieu de l'intestin, la trypsine n'ait besoin que d'un activant universel, tandis qu'en milieu sanguin, fortement colloïdal, il faille un activant spécial pour chaque protéine, en raison de ce fait connu que le milieu colloïdal gêne les phénomènes d'adsorption ». Sur ce dernier point, Maignon rejoint la théorie de Bordet sur l'intervention des sensibilisatrices, mais il est en contradiction formelle avec lui sur les relations entre sensibilisatrices et alexine ; comme nous l'avons déjà dit, et on ne saurait trop le répéter, les sensibilisatrices agissent sur les antigènes et nullement sur l'alexine ; l'ambocepteur d'Ehrlich n'a jamais été qu'une vue de l'esprit : tous les faits expérimentaux sont en contradiction formelle avec la conception du savant allemand.

Quoiqu'il en soit, si la propriété complémentaire est vraiment sous la dépendance de la trypsine absorbée au niveau de la muqueuse intestinale et passée dans le sang, l'injection de trypsine *in vivo* doit augmenter le pouvoir complémentaire ; c'est ce que Maignon dit avoir réalisé avec la collaboration de P. Ringard et J.-P. Thierry : quand on injecte de la trypsine active dans la veine d'un chien, on enregistre une baisse alexique dans les trois premières heures suivie d'un relèvement supérieur au taux initial ; avec de la trypsine inactive on obtient, après un certain temps, une augmentation alexique sans diminution préalable.

In vitro, les choses se passent de la même façon.

La destruction du début n'a jamais lieu avec une trypsine inactive ; cela laisse supposer que l'abaissement du taux, qui précède la reformation, avec de la trypsine active, est dû à une hydrolyse tryptique. En second lieu, l'augmentation du taux de l'alexine n'est pas immédiate ; elle ne se manifeste qu'après quelques heures, au minimum une heure. Il semble donc que l'alexine formée résulte d'une combinaison du catalyseur tryptique avec un constituant du sang.

Du reste, les auteurs ont pu réaliser la synthèse de l'alexine *in vitro*. Un mélange globuline-pancréatine a une action hémolysante plus grande que la pancréatine seule. Avec le mélange sérum-albumine on obtient des résultats inverses. « Tout se passe comme si l'alexine était un complexe de trypsine et d'un constituant du sérum, ce constituant étant de la globuline ou tout au moins un protide entraîné avec la globuline ». Cette action inhibitrice de la sérum-albumine peut très bien expliquer l'action antagoniste des sérums vis-à-vis de l'alexine comme leur effet anti-tryptique et c'est pour lutter contre ces actions qu'interviendraient les sensibilisatrices et la kinase. Mais, nous le répétons encore une fois, la sensibilisatrice ne modifie nullement l'alexine, elle ne touche que les antigènes.

Cependant, en faveur de la conception de Maignon, il est à remarquer que la pepsine, dont l'action protéolytique ne s'exerce qu'en milieu acide, est incapable de donner naissance à de l'alexine ; or, l'alexine comme la trypsine agissent en milieu faiblement alcalin. Ohtsuka, Terao, Sugiu, trouvent un parallélisme entre l'activité complémentaire et le fractionnement glycyle peptide par la peptidase. Les poisons phosphorés produisent une diminution de ces deux facteurs, tandis que la piqûre du corps strié provoque une augmentation. L'accroissement de la formol-titration au cours de l'hémolyse complémentaire constitue un argument de valeur. On peut donc reprendre l'hypothèse de Friedberger en en précisant certains points. « L'immunisation contre les cellules étrangères ou contre les protéines étrangères est due à la production d'éléments « adaptors » qui rendent capables les enzymes protéolytiques normales du sang (en l'occurrence trypsine passée dans le sang) de digérer les protéines étrangères ». On voit jusqu'où s'étendrait le champ de l'activité alexique, si métabolisme des aliments et processus de destruction des bactéries dans le sang étaient essentiellement semblables.

Cette hypothèse sera vérifiée le jour où l'on pourra véritablement assimiler les sensibilisatrices à des kinases. Jusque là, il est logique d'envisager la possibilité d'une telle identité d'action sans pouvoir l'affirmer faute de preuves suffisantes. Cependant, similitude d'action ne veut pas dire obligatoirement similitude de composition.

Ferranti se montre beaucoup plus prudent ; il considère que la fonction complémentaire est due exclusivement au segment ter-

minal ; le midstück agirait indirectement comme « co-ferment » en neutralisant les substances à action anti-complémentaires toujours présentes dans le sérum. Le complément serait donc constitué par un ferment (segment terminal : endstück) lequel ne pourrait agir qu'au cas où l'équilibre entre les substances anti-complémentaires des sérums et le segment intermédiaire qui les neutralise serait parfait. D'après Ferranti, lorsque la globuline précipite, l'action neutralisante du segment intermédiaire cesse et le segment terminal reste paralysé.

De cet ensemble de faits imprécis et contradictoires, il est difficile de dégager une conclusion définitive. Nos connaissances sont encore trop insuffisantes ; cependant, on a l'impression que l'activité complémentaire est l'aboutissement de plusieurs actes. Les uns sont vraisemblablement de nature chimique : tel est l'acte sensibilisateur ; depuis les récentes études de Machebœuf sur les cénapses en immunologie, les réactions antigène-anticorps spécifiques paraissent devoir être rapportées à des actions chimiques ; or, les sensibilisatrices sont des anticorps spécifiques. Les antigènes ne paraissent se combiner qu'avec les molécules non dissociées des sensibilisatrices. Il convient d'insister une fois de plus sur le caractère bien spécial de la réaction de Wassermann qui ne traduit qu'une instabilité physique du sérum des syphilitiques et qui n'est en rien une réaction antigène-anticorps spécifiques. La fixation sur les complexes antigènes-anticorps ou sur les floculats non spécifiques semble liée en grande partie à des phénomènes physiques. Un seul fait paraîtrait en contradiction avec la conception précédente : les complexes antigènes-anticorps sont beaucoup moins stables que les complexes antigènes sensibilisés-alexine ; les premiers peuvent facilement être totalement dissociés à 100° et même, dans une certaine mesure, à la température ordinaire. Les antigènes peuvent perdre une partie de la sensibilisatrice tout en conservant la totalité de l'alexine qu'ils ont fixée. Mais n'existe-t-il pas des composés chimiques peu stables et des phénomènes physiques irréversibles ?

Enfin, la lyse, la destruction des toxines ou la production de substances toxiques peuvent être sous la dépendance d'une action enzymatique variable selon le cas et selon les auteurs. . . . Quoi qu'il en soit, lorsque l'alexine se fixe sur l'antigène, elle entraîne des modifications structurales importantes ; les phénomènes lytiques,

facilement visibles ou les changements optiques des flocculats, que permettent de déceler le photomètre et l'interféromètre, en sont des preuves suffisantes.

Tout ce que l'on peut affirmer, c'est que l'action complémentaire dépend étroitement de l'état colloïdal du complexe lipides-protéines-sels du sérum. Le mécanisme des diverses actions alexiques est dans tous les cas identique, seul varie le phénomène final selon la nature de l'antigène ; celui-ci exige vraisemblablement l'intervention d'éléments spéciaux plus ou moins adaptés aux diverses qualités antigéniques. C'est la prédominance variable d'un des éléments sur les autres qui a pu faire penser à la multiplicité des compléments. Mais en réalité, comme le montrent les réactions de déviation du complément, le cadre alexique reste le même dans tous les cas.

APPLICATIONS PRATIQUES

DOSAGE DU POUVOIR COMPLEMENTAIRE

I. — Classification des méthodes

Les diverses causes d'instabilité alexique que nous avons étudiées précédemment expliquent les difficultés que l'on a rencontrées pour établir une méthode convenable de dosage du pouvoir complémentaire.

Nombreuses sont les techniques qui ont été proposées pour titrer l'alexine du sérum. Leur principe commun est basé sur la production d'une hémolyse par l'intervention de l'alexine à doser dans une suspension d'hématies sensibilisées. Chacun de ces facteurs peut varier séparément par rapport aux autres ; les différents choix que l'on a faits de l'élément variable permettent de décrire quatre groupes de méthodes :

Premier type de méthode : On fait varier la dose d'alexine à titrer, le système hémolytique restant fixe, ainsi que le temps de la réaction. Le pouvoir complémentaire est donné par la dose minimum de sérum qui permet l'hémolyse.

Deuxième type de méthode : La quantité de sérum à doser restant fixe, on recherche la quantité maximum de globules rouges sensibilisés qui peut être hémolysée au bout d'un certain temps.

Troisième type de méthode : Pour un système hémolytique constant, au bout d'un temps déterminé, on établit le degré d'hémolyse par comparaison colorimétrique avec des étalons.

Quatrième type de méthode : En fonction d'un système hémolytique constant et d'une dose de sérum à titrer fixée arbitrairement, le pouvoir alexique s'exprime par la mesure du temps nécessaire pour arriver à l'hémolyse totale.

II. — Précautions générales

Avant d'étudier en détail les procédés de dosage qui entrent dans une des catégories précédentes, il nous semble nécessaire de passer en revue l'ensemble des causes d'erreur qui peuvent fausser ces réactions ; nous indiquerons les moyens d'y remédier.

1° — Etablissement d'un système hémolytique constant.

La première difficulté que l'on rencontre quand on entreprend le dosage du complément réside dans la réalisation d'un système hémolytique (hématies + sensibilisatrice) constant. Cette précaution est cependant indispensable si l'on veut avoir des résultats comparables dans le temps.

A) *Choix d'un système hémolytique*

Scaffidi et ses collaborateurs se sont particulièrement occupés de ce problème. Ces auteurs, étudiant des systèmes hémolytiques variés (hémolysine anti-mouton, anti-cheval, anti-porc, anti-chien, anti-chat, anti-bœuf, anti-oiseau, etc.) en fonction de différents compléments (lapin, cobaye, bœuf, mouton, cheval, porc, chat, rat, etc.) arrivent aux conclusions suivantes :

a) Les sérums frais ne possèdent pas tous une activité lytique en présence d'un même système hémolytique.

b) Un sérum frais qui a une activité lytique maxima dans un système donné reste inactif ou montre un pouvoir alexique restreint en présence d'autres systèmes.

Nous avons déjà parlé de cette appropriation des alexines aux sensibilisatrices. En voici un exemple : Le complément de cobaye donne son maximum d'activité dans un système anti-mouton, alors que dans un système anti-cheval il est beaucoup moins actif ; son pouvoir est encore plus faible dans un système anti-lapin. Il va sans dire que pour avoir des résultats comparables il faut fixer conventionnellement un système hémolytique.

Le plus communément employé est un système lapin-anti-mouton ; dans ce cas, il est facile d'obtenir des sérums hémolytiques à titre élevé, le matériel nécessaire est simple à se procurer. Nous avons utilisé pour nos recherches un système cheval-anti-mouton, cela nous a permis de pratiquer de nombreux dosages en écartant les facteurs individuels.

B) Détermination d'une suspension globulaire quantitativement constante

Nous venons de faire un choix sur la qualité du système hémolytique à employer, il faut en outre que celui-ci représente un terme de comparaison quantitativement fixe.

Il est souvent question, dans le dosage de l'alexine ou dans les réactions de déviation du complément, de suspension d'hématies au 1/15 ou au 1/20. Que signifient ces proportions, quelle est la valeur de leur constance ? Ordinairement, après avoir plusieurs fois lavé et centrifugé des globules rouges, on obtient une purée d'hématies, celle-ci est diluée au taux voulu dans du sérum physiologique. On peut affirmer sans crainte d'erreur que par un tel procédé il est impossible d'obtenir deux suspensions d'hématies ayant la même valeur au point de vue hémolytique.

a) Suspensions iso-chromatiques et iso-opacimétriques.

De Blasi, le premier, eut le mérite de recourir à une technique plus rigoureuse. Pensant que chez un animal sain la valeur globulaire ne varie pas, il propose d'employer des solutions isohémoglobiniques. Pour doser l'hémoglobine, il laque un volume déterminé de suspension globulaire dans une quantité connue d'eau distillée, puis il pratique une mesure colorimétrique par comparaison avec un test au bichromate de potasse. Il suffit ensuite de corriger la suspension de façon à obtenir la quantité d'hémoglobine voulue.

Personnellement, nous utilisons pour cette mesure le photomètre de Vernes, en lisant à travers l'écran vert ; ce n'est qu'une application de la méthode de Gaude pour le dosage de l'hémoglobine employée au cours des examens hématologiques courants.

Belleli préfère l'hémomètre de Sahli. Meersseman fait une lecture opacimétrique au photomètre de Vernes sans hémolyse préalable. Vlès, Pragier et Bernstein emploient le spectro-photomètre.

b) Suspensions iso-globulaires.

Hansson, par des numérations globulaires successives, arrive à préparer des suspensions ayant le même nombre d'hématies. Il suffit d'avoir une pratique suffisante des méthodes hématologiques pour douter de la précision d'un tel procédé.

c) Suspensions iso-lipoïdiques.

Cependant, on peut reprocher aux suspensions iso-chromatiques ou iso-opacimétriques de ne pas toujours être iso-hémoglobi-

niques ou iso-globulaires. En effet, les mesures colorimétriques résultent non seulement de l'hémoglobine, mais encore de ses produits de déchet ; de plus, la valeur globulaire peut varier chez les individus normaux ; l'opacité d'une émulsion, le nombre même des hématies, n'ont pas une valeur absolue ; une hémolyse artificielle par l'eau distillée est-elle comparable à l'hémolyse biologique ? Pour Bordet, « l'hémolyse biologique se passe au niveau du stroma lipoïdique des hématies et certainement dépend de ce facteur que représente l'état électro-colloïdal de la membrane globulaire ». Pour ces différentes raisons, Scartozzi rechercha un procédé d'hémolyse artificielle, rappelant de plus près l'hémolyse biologique. La saponine semble remplir cette condition, elle agit sur le stroma lipoïdique des globules et permet de doser les lipoïdes. Scartozzi, après quelques tâtonnements, fixe empiriquement une suspension optima pour la lecture de l'hémolyse ; il écarte ainsi l'hémolyse partielle qui est d'une interprétation difficile. Cette suspension est telle que 0 cc 5 de celle-ci est hémolysé par 0 cc 7 de saponine au 3/20. 000.

d) *Suspension iso-pondérale.*

Pour vérifier la valeur de ses suspensions iso-lipoïdiques, Scartozzi imagina la technique suivante : centrifuger et laver avec soin à volume constant les globules rouges (centrifugation à 3.000 tours à la minute pendant une heure) en pipetant chaque fois le liquide surnageant et la couche superficielle. La purée d'hématies ainsi obtenue est pesée au moyen d'une balance de précision, on en dilue chaque gramme dans 19 cc d'eau physiologique.

Avec ces suspensions, l'auteur obtient des résultats très satisfaisants. Nous avouons que ce procédé nous paraît d'une réalisation assez difficile.

C) *Comment sensibiliser les hématies*

La réalisation d'une suspension globulaire aussi constante que possible ne résout pas entièrement le problème de l'équivalence des systèmes hémolytiques ; parmi les facteurs qui président à la production de l'hémolyse, la sensibilisatrice joue un rôle important. En effet, si on augmente la quantité d'hémolysine, le complément restant constant, le pouvoir hémolytique croît en fonction des doses d'hémolysine employées.

Comme nous l'avons déjà dit, sans qu'il y ait une relation de proportionnalité exacte, il existe une sorte de balancement entre ces deux constituants. C'est ce que l'on appelle « la loi de sup-

pléance de l'ambocepteur et du complément » (Arrhénius, Noguchi, Bordet, Fabre, Ronchèse).

Il s'agit donc de titrer avec soin la sensibilisatrice. Celle-ci peut se conserver assez longtemps à la glacière, mais son action sur les hématies peut varier d'une expérience à l'autre. Il semble donc préférable, sinon indispensable, de titrer ce qu'il est convenu de nommer « l'ambocepteur ou la sensibilisatrice du jour ». Ce dosage se fera en fonction d'une suspension globulaire préalablement titrée par les moyens que nous venons d'indiquer et d'une alexine dont l'activité n'a pas été déterminée. *A priori*, il semble illogique de prendre comme terme de comparaison un complément variable, cependant on admet généralement que le sérum de cobaye, ou mieux, le mélange des sérums d'une douzaine de cobayes, possède un pouvoir complémentaire pratiquement constant. C'est par rapport à ce sérum que l'on titre l'hémolysine du jour. Le plus petit volume de sensibilisatrice capable d'hémolyser la suspension type de globules rouges en présence d'une quantité arbitrairement fixée d'alexine de cobaye représente une unité hémolytique. En réalité, le mélange des sérums de plusieurs cobayes n'a pas une constance absolue ; de ce fait l'unité hémolytique du jour n'a pas toujours exactement la même valeur, mais les écarts sont si faibles qu'il est inutile d'en tenir compte. L'utilisation de sensibilisatrice de cheval permet de stocker de grandes quantités de sérum qui se conservent parfaitement. Les variations dues aux facteurs individuels se trouvent écartées. Il suffit donc de vérifier tous les 15 jours la valeur de l'unité hémolytique.

Etant donnée la variabilité des pouvoirs complémentaires suivant les espèces animales, il y a lieu d'employer un nombre d'unités hémolytiques conventionnellement choisi pour chaque espèce. Par exemple, si on doit doser le pouvoir complémentaire chez l'homme ou chez le chien, on sensibilisera la suspension type d'hématies avec 3 unités hémolytiques titrées au moyen d'alexine de cobaye ; pour la détermination du pouvoir alexique du lapin, il est recommandé d'employer quatre unités hémolytiques. On a toujours avantage à opérer en présence d'un léger excédent d'hémolysine. Il semble préférable de sensibiliser les hématies avant le dosage proprement dit, vingt minutes suffisent largement.

2° L'HÉMOLYSINE NATURELLE.

Sa présence dans le sérum à examiner constitue une source d'erreurs qu'il importe d'éliminer.

Nous avons dit au début de ce travail comment Buchner s'était mépris sur la signification de l'alexine en considérant celle-ci comme un pouvoir lytique global (hémolysine naturelle + alexine proprement dite).

A côté de l'hémolysine artificielle, il existe dans le sérum de nombreux animaux des hémolysines naturelles envers des hématies hétérologues. Il est curieux de constater que beaucoup d'auteurs, et non des moindres, n'ont pas tenu compte de ce fait.

Cependant, de nombreux procédés ont été imaginés pour corriger ce nouveau facteur de gêne.

A) *Elimination mathématique*

Tout d'abord, on a pensé qu'en dosant d'une part le pouvoir hémolytique total (hémolysine naturelle + hémolysine artificielle + alexine), d'autre part le pouvoir hémolytique naturel et en retranchant le second du premier, on pourrait en déduire la valeur du pouvoir complémentaire. Ceci est une profonde erreur, car si le pouvoir hémolytique total est un résultat synergique des hémolysines naturelle et artificielle et de l'alexine, il n'est pas une somme mathématique. Du reste, les hémolysines et l'alexine n'ont aucune unité de mesure commune. La façon d'opérer de Meersseman paraît plus correcte : cet auteur dose dans un premier temps la sensibilisatrice naturelle du sérum à étudier chauffé, et il sensibilise le sérum non chauffé de façon à obtenir un nombre d'unités hémolytiques fixé et commun à toutes les expériences.

B) *Elimination en uniformisant l'erreur pour une espèce donnée*

Scaffidi et ses collaborateurs (Cerbonne et Gato) ont étudié sur une vaste échelle les pouvoirs lytiques spontanés de différents sérums vis-à-vis d'hématies hétérologues. Ils en arrivent à cette conclusion : l'hémolysine d'individus d'une espèce donnée vis-à-vis d'une autre espèce est constante, elle possède une constitution caractéristique qui se transmet héréditairement. Quand on examine les pouvoirs hémolytiques naturels de sérums variés envers des hématies de mouton (cas que nous intéresse particulièrement), on obtient les résultats suivants : la même quantité d'hématies est hémolysée par des volumes égaux de sérum d'homme, de chien, dilués au 1/60, de rat au 1/50, de porc au 1/40, de cheval au 1/25, de canard au 1/15, de dindon au 1/10, de pigeon au 1/7,5, de poulet, de chat, de cobaye, au 1/5. On n'a pas d'hémolyse

avec des sérums de bœuf. Donc, les systèmes anti-mouton semblent particulièrement recommandés dans le dosage de l'alexine de cobaye, de poulet et de chat ; on obtient des valeurs absolues. Pour le dosage du pouvoir complémentaire des sérums humains, ils ne donnent des valeurs comparables qu'avec d'autres sérums humains ou des sérums de chien. Encore n'est-il pas tenu compte des variations pathologiques dues à certaines affections particulièrement hémolysantes ou même des variations individuelles non pathologiques. La constance de l'hémolysine pour une espèce donnée ne s'est pas toujours vérifiée (voir les résultats de Meersseman).

C) Adsorption de l'hémolysine naturelle

L'adsorption préalable de l'hémolysine naturelle par des hématies non sensibilisées paraît un moyen élégant pour supprimer cet élément. On opère de la façon suivante : le sérum à examiner est mis au contact d'hématies non sensibilisées (hématies de la même nature que celles qui serviront au dosage), lavées plusieurs fois, centrifugées ensuite. Les proportions sont de 1 volume de sérum pour 1/3 de volume d'hématies centrifugées. On mélange, on laisse le tout au repos une heure à la glacière. On centrifuge ensuite dix minutes à 3.000 tours. Le sérum limpide ainsi obtenu apparaît un peu coloré d'hémoglobine, ce qui ne gêne pas pour le dosage ultérieur ; il est exempt d'hémolysine naturelle.

Ce procédé présente cependant quelques inconvénients.

En premier lieu, il nécessite des manipulations (mélange, centrifugation) nuisibles pour l'alexine. Scartozzi prétend qu'une centrifugation de dix minutes altère peu le pouvoir alexique. S'il y a néanmoins une certaine erreur, elle sera annulée du fait que l'on emploiera toujours la même technique.

En second lieu, la légère hémolyse des hématies, que prouve la teinte du sérum, entraîne une certaine dilution du sérum ; la purée globulaire contient toujours un peu d'eau physiologique.

Enfin, fait plus important, il est probable qu'une certaine quantité de complément est consommée au cours de cette hémolyse préalable. En accord avec les données classiques, Osborn affirme cependant ne déplacer que les anticorps sans toucher à l'alexine, en ayant soin d'opérer à 0° ; est-on cependant bien sûr qu'au cours de la centrifugation, la température se maintienne suffisamment basse pour empêcher l'intervention alexique ?

D) *Emploi de système hémolytique pour complément homologue*

Certains auteurs ont cherché à tourner d'une autre façon l'obstacle constitué par la présence d'hémolysine naturelle.

On sait que les sérums d'une espèce donnée n'ont pas d'hémolysine naturelle, envers les hématies de la même espèce, autre que l'iso-hémolysine de groupe : cette dernière est en réalité négligeable. D'où l'idée d'employer, pour doser l'alexine d'un sérum humain, par exemple, un système hémolytique composé d'hématies humaines et de sérum anti-humain. Il s'agit, dans ce cas, d'hémolyse avec complément homologue. L'artifice ingénieux n'est pas sans reproche :

Les sérums anti-humains ont en général un taux hémolytique relativement faible ; de plus, divers auteurs, comme Capart, Bruynoghe, Scartozzi, Scaffidi, Zironi, Nosotti ont constaté que dans tous les systèmes avec complément homologue l'hémolyse est faible ou nulle parce qu'il y a fixation (Donzelli) et par conséquent disparition du complément. Cela peut s'expliquer par l'hypothèse suivante : la portion centrale se fixe aux hématies, mais sur le complexe ainsi obtenu la portion terminale ne peut agir. Capart et Bruynoghe soutiennent que la faiblesse du complément est liée à l'insuffisance du composant albumine. De toutes façons, l'emploi d'un système hémolytique pour complément homologue nécessite de fortes doses d'ambocepteur et de complément.

Pour le dosage alexique des sérums humains, Palmieri, dans chaque épreuve, utilise 0 cc 05 de sérum pur ; Belleli doit se servir de sérums anti-humains dilués seulement au 1/10 ; cet auteur va jusqu'à tenir compte des iso-hémolysines de groupe. Il prépare avec le lapin trois sérums hémolytiques anti-humains, un pour chacun des trois premiers groupes sanguins. Pour chaque sujet à examiner, on cherche le groupe et on emploie l'anti-sérum correspondant pour le dosage du pouvoir complémentaire. Pour les sujets du groupe IV, qui ne possèdent ni iso-hémolysine ni iso-agglutinine, on sensibilise avec un mélange à parties égales de sérum anti 2 et anti 3. Si cette précaution paraît superflue pour éliminer l'hémolysine de groupe en réalité négligeable, le procédé présente surtout l'avantage d'obtenir des sérums hémolytiques beaucoup plus actifs.

Il est inutile d'insister sur la présence d'autres hémolysines au sein même des quatre groupes ; nous voulons parler des hémolysines de sous-groupes, qui sont extrêmement faibles.

E) Atténuation de l'erreur en hypersensibilisant les hématies

On peut atténuer relativement l'effet de l'hémolysine naturelle en exagérant celui de l'hémolysine artificielle, c'est-à-dire en sensibilisant à plus haut degré les hématies. Il s'agit toutefois de se tenir au-dessous de la zone où commence le phénomène Neisser-Wechsberg.

Nous avons réalisé ces deux conditions dans notre méthode de dosage.

3° L'ANTIGÈNE DE FORSSMANN.

Cette question ne semble pas gêner le dosage de l'alexine, les antigènes de Forssmann font défaut chez l'homme, le bœuf, le porc, le lapin, le rat, le pigeon. Les coanticorps spécifiques, quand ils existent, se confondent avec les hémolysines hétérologues et s'éliminent de la même façon.

4° TROUBLES DUS AUX CONDITIONS ATMOSPHÉRIQUES.

Enfin, il faut savoir que, malgré toutes les précautions précédentes, il est des jours où le dosage de l'alexine donne des résultats défectueux. Ces faits sont bien connus des auteurs allemands qui ont appelé ces jours défavorables : « Negativitätstage ». Scartozzi rattache ces phénomènes à l'altération des hématies ; personnellement, nous incriminerions plus volontiers les circonstances atmosphériques ; les observations de Jame et Jude sur l'influence du temps orageux sur l'hémolyse confirment cette opinion.

5° CHOIX DU SÉRUM PHYSIOLOGIQUE.

En bactériologie, on utilise plus fréquemment la solution de NaCl à 8,5 p. 1000 que celle à 9 p. 1000.

Les observations de Collip (1920) sur l'abaissement du point de congélation des globules rouges et des sérums de mouton ainsi que sur celui des solutions chlorurées sodiques de concentrations variables amènent à la conclusion suivante : des taux de 9 p. 1000 sont plus près que 8,5 p. 1000 de la pression osmotique du sang des mammifères.

En réalité, Bernstein et Maingard, étudiant les effets de la pression osmotique sur les temps d'hémolyse biologique, ont montré qu'il n'y avait pas de différences appréciables entre les solutions à 8,5 p. 1000 et 9 p. 1000.

6° PRÉCAUTIONS GÉNÉRALES A OBSERVER AU COURS DES DOSAGES.

Les sérums seront examinés environ cinq heures après le prélèvement de sang pratiqué à jeun et en ayant soin d'attendre 2 minutes après la pose du garrot.

On évitera autant que possible les manipulations nuisibles telles que centrifugation et agitation ; si elles sont indispensables, on les réduira au minimum en ayant soin d'opérer de la même façon sur tous les échantillons à doser.

On a avantage à utiliser des tubes à hémolyses ayant des volumes, des diamètres égaux ; la qualité du verre ne doit pas changer.

III. — Description des méthodes

Il n'est pas dans notre intention de décrire en détail toutes les méthodes de dosage de l'alexine qui ont pu être publiées. Celles-ci sont beaucoup trop nombreuses ; elles ne présentent pas toujours un grand intérêt quant à leur correction ou leur originalité. En effet, la plupart des auteurs qui se sont occupés de la question ont imaginé un procédé personnel ou amélioré une technique déjà connue en ajoutant quelques modifications de détails. Ceci montre l'imperfection de telles méthodes et explique dans une certaine mesure les divergences de résultats qui nous ont frappé au cours de l'étude des variations physiologiques ou pathologiques de la propriété complémentaire.

Nous énumérerons donc un certain nombre de ces méthodes en insistant plus particulièrement sur celles qui nous ont paru les plus caractéristiques ou les plus convenables.

PREMIER TYPE DE MÉTHODE.

A) Méthode ordinaire des tubes en série

C'est le procédé couramment employé pour le premier temps (titrage du complément) de la réaction de Calmette et Massol.

Il consiste à faire agir des doses croissantes du sérum à titrer sur un volume constant de suspension d'hématies convenablement sensibilisées ; on complète par de l'eau physiologique pour obtenir des volumes totaux identiques. Le premier tube dans lequel est noté l'hémolyse donne la valeur alexique.

TABLEAU DU TITRAGE

Complément (sérum dilué convenablement)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
Sérum hémolytique titré (2 unités)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Eau salée à 0,9 p. 100	1,8	1,7	1,6	1,5	1,4	1,3	1,2	1,1
Hématies de mouton à 5 p. 100	1	1	1	1	1	1	1	1
30 minutes à l'étuve à + 37°								
Résultats : Exemple	H ⁰	H ⁰	H ⁰	H ⁵	H ⁵	H ⁸	H ⁸	H ⁸

Conclusion : La dose suffisante est 0 cc 6 dilué x fois.

Cette méthode, suffisante pour le dosage préliminaire du complément de cobaye dans une réaction de déviation du complément, ne donne pas de résultats comparables dans le temps ; aucune précision n'est donnée sur la valeur du système hémolytique.

B) Méthode de Vlès — Pragier — Bernstein (1931)

La recherche de l'alexine est effectuée par la réaction classique d'hémolyse avec une échelle de tubes contenant chacun, dans 3 cc du liquide total, des quantités constantes d'hématies de mouton lavées, de sérum sensibilisateur anti-mouton et des quantités progressives du sérum alexique à étudier. Après une 1/2 heure à 37°, on centrifuge et on détermine le pour cent d'hémolyse par voie spectrophotométrique (Colog. 1/10 sur la bande β de l'oxyhémoglobine 542 $\mu\mu$; le pour cent d'hémolyse est le rapport du cologarithme d'une dilution donnée à celui d'un témoin spectral présentant le maximum d'hémolyse obtenue par un laquage de la même quantité d'hématies de mouton dans de l'eau distillée complétée à 3 cc.

Le pouvoir alexique (P A) est l'inverse de la concentration du sérum alexique qui dans ces conditions produit 95 % d'hémolyse.

Marche d'une expérience :

1° On prépare la suspension d'hématies de mouton en ajoutant 10 cc de solution physiologique à 0 cc 3 de globules de mouton. On mélange bien en aspirant et en refoulant plusieurs fois avec la pipette ;

2° On prépare un premier échantillon spectral en mettant dans un tube à hémolyse 0 cc 5 de la solution de globules de mouton et en y ajoutant 2 cc 5 d'eau distillée. Après avoir bien mélangé, on examine au spectrophotomètre et on vérifie si la concentration en hémoglobine a une valeur donnée.

Sinon, on dilue ou on concentre la suspension ;

3° On introduit dans chaque tube 0 cc5 de cette suspension de globules vérifiée au spectrophotomètre ;

4° On prépare ensuite la solution de sérum hémolytique anti-mouton : on met 4 cc 5 de solution physiologique dans un tube à essai et on y ajoute 0 cc 5 de sérum hémolytique (en évitant d'aspirer le sérum trouble qui se trouve au fond de l'ampoule). On mélange bien. On met 0 cc 3 de cette solution dans chaque tube sauf un (celui noté : sans hémolytique) ;

5° On ajoute des quantités décroissantes de solution physiologique, pour compléter le volume total dans chaque tube (sérum alexique inclus) à 3 cc ;

6° On mélange en retournant chaque tube trois fois sur le doigt qu'on essuie avant de passer d'un tube à l'autre ;

7° On attend 10 minutes avant d'ajouter le sérum alexique ;

8° On ajoute des doses croissantes de sérum alexique dilué au 1/5 en eau physiologique, suivant le tableau ci-après :

TITRE DU SÉRUM A DANS LE MÉLANGE	HÉMATIES MOUTON 1/20	SÉRUM HÉMOLYTIQUE 10 %	EAU PHYSIO- LOGIQUE	SÉRUM A 10 %
1	0,5	0,3	2,15	0,05
3	0,5	0,3	2,11	0,09
4	0,5	0,3	2,08	0,12
5	0,5	0,3	2,05	0,15
6	0,5	0,3	2,02	0,18
7	0,5	0,3	1,99	0,21
8	0,5	0,3	1,96	0,21
9	0,5	0,3	1,93	0,27
10	0,5	0,3	1,90	0,30
11	0,5	0,3	1,87	0,33
12	0,5	0,3	1,84	0,36
13	0,5	0,3	1,81	0,39
16	0,5	0,3	1,70	0,50
25	0,5	0,3	1,45	0,75
Témoins : 1) sans hémolytique	0,5	0	2	0,5
Témoins : 2) sans alexique	0,5	0,3	2,2	0
Témoins : 3) témoin spectral	0,5	0	eau distillée 2,5	sérum à 10 % 0

9° On retourne les tubes pour mélanger, en prenant les mêmes soins que précédemment ;

10° Les tubes sont déposés à l'étuve à 37° une demi-heure ;

11° Puis on termine la réaction 2 à 3 minutes à la glacière, on centrifuge les tubes ;

12° On fait la lecture au spectrophotomètre, et on calcule pour chaque tube le pour cent d'hémolyse ;

13° On porte en ordonnées les chiffres obtenus qui représentent le pour cent d'hémolyse et en abscisses les concentrations du sérum alexique. Le pouvoir alexique sera donné par l'inverse de la concentration de sérum qui dans les conditions données produira 95 % d'hémolyse.

Cette technique a l'avantage d'employer des suspensions plus constantes et plus comparables dans le temps.

C) *Méthode de Valéry Deutsch (1938)*

Elle ne donne pas de valeurs absolues, mais des résultats relatifs par rapport à un sérum témoin supposé normal.

On procède de la façon suivante :

1° Alexine (sérum de cobaye frais) à 2 % de 0 cc 1 à 0 cc 5 ce qui correspond à une concentration en alexine de 0 cc 02 à 0 cc 10 pour 100 ;

2° Sérum hémolytique spécifique de lapin anti-mouton, 0 cc 1 contenant 10 unités hémolytiques ;

3° Eau physiologique : quantité nécessaire pour que le volume total, après avoir ajouté les hématies, soit de 3 cc ;

4° Globules rouges de mouton à 5 % lavés 4 fois : 1 cc.

Chaque courbe d'hémolyse nécessite 9 tubes mis au même moment à l'étuve. Après 30 minutes à 37° on les porte une demi-heure à la glacière pour arrêter l'hémolyse.

On centrifuge et on fait une lecture colorimétrique au colorimètre de Duboscq.

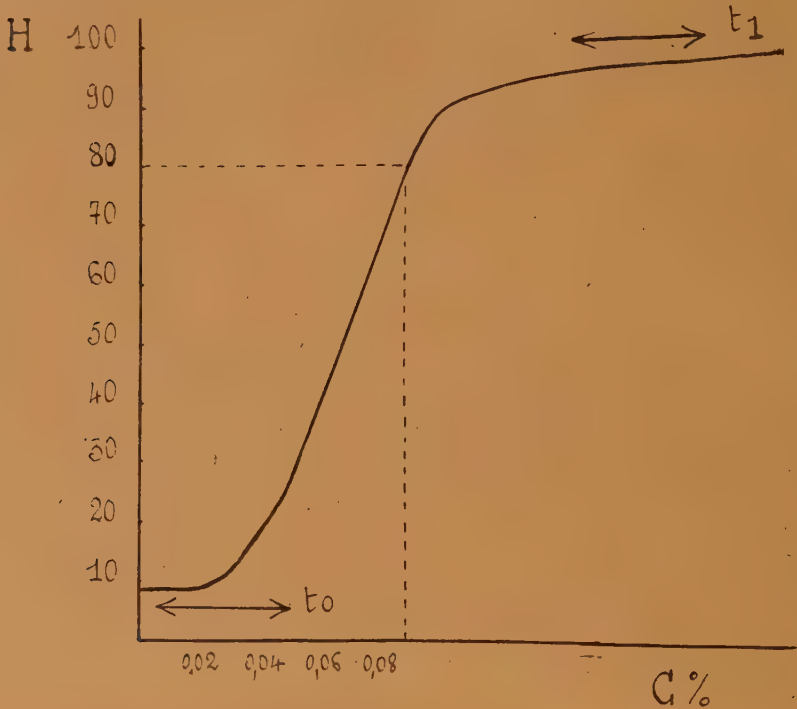
Les courbes d'hémolyses sont établies de la façon suivante, pour le sérum témoin et le sérum à titrer.

En abscisses les concentrations C en alexine.

En ordonnées le degré d'hémolyse H en pour cent.

On obtient deux tangentes : t_0 : faible hémolyse sans intervention d'Alexine ; t_1 : hémolyse à 100 %.

On compare les courbes d'hémolyse du sérum x à donner avec celles du témoin. D'après les rapports de concentration d'alexine produisant un degré d'hémolyse x choisi, on déduit l'activité alexinique *relative* du sérum à titrer.



Soit A_x l'activité d'une alexine qui en concentration C_x produit le même degré d'hémolyse que le témoin t dont l'activité en concentration C_t est A_t .

$$\text{On peut écrire : } \frac{A_x}{A_t} = \frac{C_t}{C_x}$$

$$\text{d'où : } A_x = \frac{A_t \times C_t}{C_x}$$

On choisira C_x correspondant à l'endroit presque vertical de la courbe.

Pour vérifier leur méthode, les auteurs ont dosé des alexines

diluées à 50 % = A x et à 10 %, soit a y, par rapport à une alexine pure pour 100 % = a t.

Ils obtiennent $\left\{ \begin{array}{l} a x = 48 \% \text{ (au lieu de 50)} \\ a y = 10,4 \% \text{ (au lieu de 10)} \end{array} \right.$

Cette méthode donne d'assez bons résultats relatifs, mais elle ne tient aucunement compte de l'hémolysine naturelle des sérums à doser.

D) Méthode personnelle (1936).

Lors de nos premières recherches sur l'alexine, en 1936, après quelques tâtonnements, nous avons mis au point la méthode suivante qui a été utilisée pour la plupart des travaux personnels mentionnés dans cette thèse.

Nous avons essayé d'obtenir un système hémolytique aussi constant que possible tant au point de vue quantitatif qu'au point de vue qualitatif.

a) Préparation de la suspension globulaire.

Divers essais nous ont amené à choisir une suspension d'hématies de mouton en eau physiologique qui, hémolysée dans les conditions suivantes : 0 cc75 de suspension et 1 cc 25 d'eau distillée, libèrent une proportion d'hémoglobine $H \% = 93,9$ donnant un indice optique de $n = 00155$ au photomètre de Vernes. Cet $H \%$ est un nombre relatif calculé par rapport au taux normal d'hémoglobine du sang humain tel qu'il est obtenu par la méthode de dosage d'hémoglobine de G. Gaude dont nous empruntons le tableau.

On opère donc de la façon suivante :

1°) Mélanger :

Purée d'hématies	4 cc
Eau physiologique, Q.S. pour	100 cc

On obtient ainsi la suspension n° 1 généralement trop concentrée.

2°) Pratiquer l'hémolyse artificielle suivante :

Suspension n° 1	0 cc 75
Eau distillée	1 cc 25

3°) Centrifuger et faire une lecture photométrique en 00 avec écran vert.

Soit n' le chiffre lu au photomètre correspondant à H' % d'hémoglobine (voir le tableau de G. Gaude).

4°) Il s'agit ensuite de corriger la suspension n° 1 de manière qu'un second essai d'hémolyse artificielle, effectué dans les conditions précédentes, donne au photomètre le nombre empirique choisi $n = 00\ 155$ correspondant à $H = 93,9$.

Pour cela, verser un volume V' de la suspension n° 1 dans une éprouvette graduée et compléter à 100 cc par de l'eau physiologique. Ce volume V' s'obtient par le calcul suivant :

$$V' = \frac{93,9 \times 100}{H'} = \frac{9.390}{H'}$$

En complétant à 100 cc par de l'eau physiologique on obtient une suspension n° 2.

5°) Effectuer un nouvel essai d'hémolyse artificielle :

Suspension n° 2	0 cc 75
Eau distillée	1 cc 25

La lecture photométrique donne un indice n'' correspondant à H'' % d'hémoglobine (voir le tableau).

Dans la plupart des cas, une seule correction suffit et au second essai l'indice opacimétrique n'' est égal à 00 155 correspondant à une valeur de $H = 93,9$.

6°) S'il n'en est pas ainsi, corriger la suspension n° 2 comme précédemment jusqu'à ce que l'on obtienne une valeur de $n = 00\ 155$ correspondant à $H = 93,9$.

b) Sensibiliser les hématies.

Nous employons une sensibilisatrice de cheval anti-mouton, ce qui permet d'effectuer de très nombreux dosages en évitant les variations individuelles. Pour plus de sûreté, on pourra titrer l'hémolysine du jour en présence de sérum de cobaye, on obtient ainsi une unité hémolytique correcte, cette unité hémolytique est dosée par rapport à 0 cc 75 de notre suspension type.

On sensibilise ensuite à raison de 3 unités hémolytiques du jour par 0 cc 75 de suspension, c'est-à-dire $\frac{3 \times 100}{0,75} = 400$ unités pour 100 cc de suspension.

Tableau de G. Gaude donnant la valeur de H % pour les valeurs
de n comprises entre 12 et 200 en prenant 14 gr. 6
comme taux normal d'hémoglobine

n	H %	n	H %	n	H %	n	H %
12	0,2	59	31,0	106	61,8	153	92,6
13	0,9	60	31,6	107	62,4	154	93,2
14	1,5	61	32,3	108	63,1	155	93,9
15	2,2	62	33,0	109	63,7	156	94,5
16	2,8	63	33,6	110	64,4	157	95,2
17	3,5	64	34,3	111	65,0	158	95,8
18	4,1	65	34,9	112	65,7	159	96,5
19	4,8	66	35,6	113	66,4	160	97,1
20	5,4	67	36,2	114	67,0	161	97,8
21	6,1	68	36,9	115	67,7	162	98,5
22	6,8	69	37,5	116	68,3	163	99,1
23	7,4	70	38,2	117	69,0	164	99,8
24	8,1	71	38,8	118	69,6	165	100,4
25	8,7	72	39,5	119	70,3	166	101,1
26	9,4	73	40,2	120	70,9	167	101,7
27	10,0	74	40,8	121	71,6	168	102,4
28	10,7	75	41,5	122	72,3	169	103,0
29	11,3	76	42,1	123	72,9	170	103,7
30	12,0	77	42,8	124	73,6	171	104,3
31	12,6	78	43,4	125	74,2	172	105,0
32	13,3	79	44,1	126	74,9	173	105,7
33	14,0	80	44,7	127	75,5	174	106,3
34	14,6	81	45,4	128	76,2	175	107,0
35	15,3	82	46,1	129	76,8	176	107,6
36	15,9	83	46,7	130	77,5	177	108,3
37	16,6	84	47,4	131	78,1	178	108,9
38	17,2	85	48,0	132	78,8	179	109,6
39	17,9	86	48,7	133	79,5	180	110,2
40	18,5	87	49,3	134	80,1	181	110,9
41	19,2	88	50,0	135	80,8	182	111,6
42	19,9	89	50,6	136	81,4	183	112,2
43	20,5	90	51,3	137	82,1	184	112,9
44	21,2	91	51,9	138	82,7	185	113,5
45	21,8	92	52,6	139	83,4	186	114,2
46	22,5	93	53,3	140	84,0	187	114,8
47	23,1	94	53,9	141	84,7	188	115,5
48	23,8	95	54,6	142	85,4	189	116,1
49	24,4	96	55,2	143	86,0	190	116,8
50	25,1	97	55,9	144	86,7	191	117,4
51	25,7	98	56,5	145	87,3	192	118,1
52	26,4	99	57,2	146	88,0	193	118,8
53	27,1	100	57,8	147	88,6	194	119,4
54	27,7	101	58,5	148	89,3	195	120,1
55	28,4	102	59,2	149	90,1	196	120,7
56	29,0	103	59,8	150	90,6	197	121,4
57	29,7	104	60,5	151	91,2	198	122,0
58	30,3	105	61,1	152	91,9	199	122,7
						200	123,3

Ce tableau a été établi par G. Gaude pour le dosage de l'hémoglobine du sang humain.

Le pourcentage d'Hémoglobine H % a été calculé par rapport à une normale de 14 gr. 6 d'hémoglobine par litre.

Dans cette méthode de dosage d'hémoglobine, les lectures photométrique sont faites après hémolyse artificielle de 0 cc 5 de sang dans 29 cc 5 d'eau distillée.

n = chiffre du photomètre corrigé des surcharges.

Entre H et n existe la relation suivante obtenue en calculant la fonction de la courbe :

$$H \% = (0,655 \times n) - 7,655$$

Exemple : supposons que l'unité hémolytique soit de 0 cc 40 de sensibilisatrice diluée au 1/100 ; pour avoir 400 unités il faudra donc $400 \times 0,40$ de sensibilisatrice diluée au 1/100, c'est-à-dire

$$400 \times 0,40$$

100

 = 1 cc 6 de sérum hémolytique pur de cheval. Ce

degré de sensibilisation a été choisi parce qu'il permet d'atténuer les erreurs d'hémolysine naturelle tout en se tenant au-dessous de la zone dans laquelle commence le phénomène de Neisser-Wechberg. Dans ce système hémolytique particulièrement concentré, l'intervention de l'hémolysine naturelle est pratiquement négligeable.

Ce moyen nous a paru préférable à celui qui consiste à adsorber préalablement l'hémolysine naturelle du sérum à doser, par des hématies de mouton non sensibilisées ; nous avons exposé plus haut les inconvénients de ce procédé.

Un témoin composé de sérum à étudier chauffé, d'hématies de mouton non sensibilisées et d'alexine de cobaye (qui ne contient pas de sensibilisatrice naturelle) permettra de dépister les sérums véritablement trop riches en hémolysine naturelle.

c) *Titrage du complément.*

1°) Le sérum à étudier est dilué de façon convenable :

1/16 pour le cobaye ;

1/3 pour l'homme ;

1/3 pour le chien ;

1/2 pour le lapin ;

pur pour le cheval (très mauvaise alexine).

Ces dilutions ont été calculées pour obtenir une sensibilité suffisante de la réaction d'hémolyse tout en se tenant dans les limites de variations physiologiques ou pathologiques. Toutefois, si l'on se trouve en présence d'un sérum anormalement élevé, on recommencera l'opération en diluant plus fortement. Si, au contraire, l'hémolyse ne se produit pas dans le dernier tube, il conviendra d'employer un taux de dilution plus faible. La réaction d'hémolyse comporte 15 tubes.

2°) Distribuer de gauche à droite le sérum à étudier convenablement dilué par doses croissantes de 0 cc à 0 cc 75.

PROTOCOLE DE NOTRE METHODE

TUBES :	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
Sérum à étudier convenablement dilué	0 cc 5	0 cc 10	0 cc 15	0 cc 20	0 cc 25	0 cc 30	0 cc 35	0 cc 40	0 cc 45	0 cc 50	0 cc 55	0 cc 60	0 cc 65	0 cc 70	0 cc 75
Eau physiologique	0 cc 70	0 cc 65	0 cc 60	0 cc 55	0 cc 50	0 cc 45	0 cc 40	0 cc 35	0 cc 30	0 cc 25	0 cc 20	0 cc 15	0 cc 10	0 cc 05	0 cc 00
Eau physiologique avec rhéomètre	0 cc 50	0 cc 50	0 cc 50	0 cc 50	0 cc 50	0 cc 50	0 cc 50	0 cc 50	0 cc 50	0 cc 50	0 cc 50	0 cc 50	0 cc 50	0 cc 50	0 cc 50
Hématies sensibilisées	0 cc 75	0 cc 75	0 cc 75	0 cc 75	0 cc 75	0 cc 75	0 cc 75	0 cc 75	0 cc 75	0 cc 75	0 cc 75	0 cc 75	0 cc 75	0 cc 75	0 cc 75
Total	2 cc	2 cc	2 cc	2 cc	2 cc	2 cc	2 cc	2 cc	2 cc	2 cc	2 cc	2 cc	2 cc	2 cc	2 cc
Demi-heure à 37°															
Lecture Ex.	H ₀	H ₀	H ₀	H ₀	H ₁	H ₁	H ₂	H ₂	H ₃	H ₃	H ₃	H ₃	H ₃	H ₃	H ₃

Ce sérum produit une hémolyse au tube IX, donc est à la limite inférieure de la normale.

3°) Egaliser les volumes, par de l'eau physiologique, à 0 cc 75.

4°) Compléter par de l'eau physiologique à 1 cc 25 avec un rhéomètre gradué à 0 cc 50.

5°) Ajouter 0 cc 75 de suspension type sensibilisée depuis 20 minutes.

6°) Laisser à l'étuve 30 minutes.

7°) Lire l'hémolyse en choisissant H³ hémolyse complète.

Le pouvoir alexique est inversement proportionnel au volume de sérum nécessaire pour produire l'hémolyse complète H³.

La moyenne chez les sujets normaux se trouve au tube VIII.

Au-dessous du tube VI, les sujets sont hyperalexiques ; au-dessus de X, l'alexine peut-être considérée comme diminuée.

Par surcroît de précautions, nous avons toujours effectué un dosage avec un sérum témoin provenant de sujet paraissant normal.

DEUXIÈME TYPE DE MÉTHODE.

Parini les techniques qui permettent de calculer l'activité alexique en fonction de quantités variables d'hématies sensibilisées, les méthodes de Meersseman et de Scartozzi nous paraissent être celles qui offrent le plus de garantie.

A) Méthode de Meersseman

Meersseman élimine le facteur d'erreur dû à l'hémolysine naturelle en titrant la sensibilisatrice naturelle anti-mouton de l'échantillon à examiner : on ajoute ensuite à ce sérum une quantité de sérum hémolytique anti-mouton telle que la teneur totale en sensibilisatrice atteigne une valeur déterminée, choisie une fois pour toutes et constante pour tous les examens ; il ne reste plus alors qu'à titrer le pouvoir hémolytique du sérum ainsi traité vis-à-vis des hématies de mouton. L'on opère ainsi toujours en présence d'une quantité constante de sensibilisatrice anti-mouton.

1°) *Choix de la suspension globulaire.*

Meersseman emploie une suspension globulaire d'hématies de mouton telle que diluée 100 fois (0 cc 1 de suspension + 9 cc 9 d'eau physiologique) elle ait, au photomètre de Vernes, une densité optique comprise entre 80 et 90 degrés photométriques.

2°) *Choix du sérum hémolytique.*

On emploie un sérum hémolytique lapin anti-mouton convenablement titré.

— Le dosage de l'alexine comprend deux opérations successives :

a) La détermination de l'index hémolytique ;

b) Le titrage proprement dit du pouvoir alexique.

a) *Détermination de l'index hémolytique.* — Elle s'obtient en faisant agir le sérum à étudier, préalablement inactivé, sur des doses croissantes d'hématies de mouton non sensibilisées, en présence d'alexine de cobaye convenablement titrée (alexine de cobaye titrée en fonction de la suspension d'hématies et en présence d'un excès de sensibilisatrice. Le sérum de cobaye a le gros avantage de ne point avoir d'hémolysine naturelle anti-mouton).

On opère de la façon suivante :

Une petite partie du sérum à examiner est inactivé par chauffage au bain-marie à 56° pendant une demi-heure, le titrage de l'index hémolytique est ensuite pratiqué suivant le dispositif ci-dessous (les quantités sont indiquées en centrimètres cubes) :

Sérum à titrer inactivé ..	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Alexine de cobaye 1/10 ..	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Hématies de mouton (suspension type)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
Eau physiologique	1,4	1,3	1,2	1,1	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5
30 minutes à l'étuve à 37°, puis 30 minutes à la température du laboratoire										
Résultats (exemple)	H	H	H	H	H	H	0	0	0	0

Dans ce titrage, la dose d'alexine de cobaye à employer est le double de la dose minima hémolysante donnée par le titrage préalable de l'alexine destinée à la réaction.

L'index hémolytique est donné par la dose maxima de globules rouges hémolysés. Ainsi, dans l'exemple ci-dessus, l'hémolyse totale a lieu pour une dose maxima de 0 cc 5 de suspension globulaire. Nous dirons que l'index hémolytique est égal à 5 ou, ce qui revient au même, que 0 cc 1 de sérum examiné renferme 5 unités hémolytiques. Si l'index est supérieur à 10, l'on recommencera le dosage en présence de doses de suspension globulaire allant de 1 à 2 cc.

b) *Titrage du pouvoir alexique.* — On ajoute tout d'abord au sérum à examiner une quantité de sérum hémolytique telle que 0 cc 1 de ce sérum renferme au total 30 unités hémolytiques.

Dans l'exemple choisi ci-dessus, le sérum à examiner a un index hémolytique de 5, ce qui revient à dire que 0 cc 1 de ce sérum renferme 5 unités hémolytiques ; il faut donc ajouter par 1/10 de cc de ce sérum 25 unités hémolytiques. Admettons que le sérum hémolytique lapin anti-mouton dont nous disposons a un titre de 1/20, cela veut dire que 0 cc 1 de ce sérum dilué 20 fois est capable d'hémolyser 1 cc de suspension de globules de mouton, en présence de la dose convenable d'alexine, ce qui revient à dire que 0 cc 1 de ce sérum dilué 20 fois renferme 10 unités hémolytiques. Il nous faudra donc ajouter par 1/10 de cc du sérum à examiner 0 cc 25 de ce sérum hémolytique artificiel dilué 20 fois.

L'on a choisi ce chiffre de 30 unités hémolytiques parce qu'il demeure au-dessus des valeurs les plus élevées que l'on peut rencontrer dans les sérums humains (l'index le plus fort noté par l'auteur sur 562 déterminations a été de 25). Il a, en outre, l'avantage d'assurer, dans tous les titrages, un excès de sensibilisatrice.

Dans ces conditions, toutes les variations observées seront uniquement fonction de la quantité d'alexine renfermée dans les sérums examinés.

Le titrage du pouvoir alexique est alors pratiqué suivant le dispositif ci-dessous (quantités mentionnées en centimètres cubes) :

Sérum à titrer frais	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Sérum hémolytique dilué à son titre (ex.)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Suspension d'hématies	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
Eau physiologique	1,6	1,5	1,4	1,3	1,2	1,1	1,0	0,9	0,8	0,7
30 minutes à l'étuve à 37°, puis 30 minutes à la température du laboratoire										
Résultats (exemple)	H	H	H	H	H	H	H	0	0	0

Le pouvoir alexique est donné par la quantité maxima d'hématies qui a été totalement hémolysée ; ainsi, dans l'exemple choisi, l'hémolyse totale se produit pour une dose maxima de 0 cc 5 de suspension globulaire : nous dirons que le pouvoir alexique du sérum considéré est égal à 5.

D'après l'auteur qui, en collaboration avec son élève H. Perrot,

a titré le pouvoir alexique chez 53 sujets normaux, on peut considérer que la valeur moyenne du pouvoir complémentaire évalué par cette méthode est de 5. Au-dessus de 6, il peut être considéré comme augmenté ; 4 constitue la limite inférieure de la normale.

B) Méthode de Scartozzi

Toute l'originalité et l'intérêt de cette méthode résident dans l'emploi d'une suspension iso-lipoïdique. Scartozzi a essayé de fixer une suspension type constante pour tous les examens en se servant pour sa mesure de phénomènes rappelant de plus près l'hémolyse biologique. Pour cela, il pratique une hémolyse artificielle à l'aide de saponine.

1°) Préparation de la suspension d'hématies.

Scartozzi propose d'employer, pour le dosage du pouvoir complémentaire, une suspension type d'hématies de mouton telle que 0 cc 5 de celle-ci soit hémolysé par 0 cc 7 de saponine pure au 3/20.000 et non pas 0 cc 6. L'épreuve doit être effectuée 5 minutes au bain-marie à 37°, on porte ensuite brusquement les tubes 5 minutes dans un bain d'eau froide.

L'auteur conseille de procéder de la façon suivante :

A partir de saponine Merk extra-pure à 3 p. 100, on fait une dilution extemporanée au 3/20.000. Cette dilution a été choisie parce qu'elle permet d'obtenir une suspension colloïdale produisant des hémolyses très nettes.

La dilution se fera à froid, goutte à goutte avec beaucoup de précautions.

A l'aide de cette émulsion de saponine, on va rechercher quelle est la suspension globulaire qui est susceptible d'être hémolysée par 0 cc 7 de saponine au 3/20.000.

Pour cela, on prépare des suspensions globulaires au 1/18 en solution physiologique (1 cc de purée d'hématies centrifugées + 17 cc de solution physiologique). Nous rappellerons cette suspension A¹ ; à partir de cette suspension on pratique des dilutions successives (en général, les 5 dilutions indiquées ci-dessous suffisent) :

A ² = 2 cc de A ¹ + 0 cc 1 de solution physiologique :	dilution 1/18,9
A ³ = 2 cc de A ¹ + 0 cc 2 » » :	» 1/19,8
A ⁴ = 2 cc de A ¹ + 0 cc 3 » » :	» 1/20,7
A ⁵ = 2 cc de A ¹ + 0 cc 4 » » :	» 1/21,6
A ⁶ = 2 cc de A ¹ + 0 cc 5 » » :	» 1/22,7

Pour chacune de ces 5 suspensions d'hématies, il est pratiqué 4 épreuves d'hémolyse artificielle à la saponine dans les proportions suivantes : 0 cc 5 de suspension globulaire avec des doses décroissantes (0 cc 8, 0 cc 7, 0 cc 6, 0 cc 5) de saponine au 3/20.000 + des doses croissantes d'eau physiologique (1 cc 2, 1 cc 3, 1 cc 4, 1 cc 5) pour égaliser les volumes totaux. Le tout est porté 5 minutes à 37°, puis brusquement en eau froide (10 à 15°). On lit l'hémolyse ; on choisit la suspension dont 0 cc 5 est hémolysé par 0 cc 7 et non 0 cc 6 de saponine au 3/20.000. Connaissant les proportions, on prépare une quantité suffisante pour les dosages à effectuer.

Pour préparer la suspension recherchée, on peut encore opérer d'une façon plus simple. L'hémolyse est pratiquée toujours avec les 4 doses de saponine au 3/20.000 (0 cc 8, 0 cc 7, 0 cc 6, 0 cc 5) sur la suspension A¹ seulement. Si, par exemple, l'hémolyse a lieu avec 0 cc 8 de saponine et non avec 0 cc 7, on calcule la dilution voulue à partir de cette simple proportion :

$$\frac{18}{x} = \frac{7}{8} \text{ d'où } x = 20,57$$

Dans ce cas, la suspension type sera préparée en diluant la purée d'hématies au 1/20,57 en solution physiologique.

2°) *Titrage de la sensibilisatrice.*

En fonction de cette suspension type, et en présence de mélange de sérum de cobaye frais dilué convenablement, on titre l'hémolyse du jour.

On peut ainsi sensibiliser les hématies de façon convenable, selon l'espèce animale (pour le dosage d'alexine de lapin 5 unités, pour le sérum humain 3 unités, pour le sérum de cobaye 1 unité).

3°) *Elimination de l'hémolysine naturelle.*

Celle-ci se fait par adsorption en présence d'hématies non sensibilisées. Nous ne revenons pas sur ce procédé qui a été décrit plus haut. L'élimination de l'hémolysine naturelle anti-mouton est inutile dans le cas où l'on titre du sérum de cobaye.

4°) *Titrage proprement dit du pouvoir complémentaire.*

On procède suivant le schéma ci-dessous :

Tubes	Sérum frais dilué au 1/5, dépourvu de son hémolysine naturelle	Hématies de mouton convenablement sensibilisées	Eau physiologique	Résultats
1	0,5	0,2	1,8	1
2	0,5	0,4	1,6	2
3	0,5	0,6	1,4	3
4	0,5	0,8	1,2	4
5	0,5	1,0	1,0	5
6	0,5	1,2	0,8	6
7	0,5	1,4	0,6	7
8	0,5	1,6	0,4	8
9	0,5	1,8	0,2	9
10	0,5	2,0	0,0	10

Si, par exemple, on a une hémolyse totale dans les trois premiers tubes, on dit que le pouvoir complémentaire est égal à 3.

TROISIÈME TYPE DE MÉTHODE

On a imaginé plusieurs procédés pour mesurer le degré d'hémolyse produit par un volume constant de complément agissant sur une quantité constante d'hématies sensibilisées, au bout d'un certain temps.

1°) Muller (1910) centrifuge les globules non hémolysés restant après la réaction et compare le liquide surnageant avec une série de tubes standard renfermant des quantités variables d'hémoglobine.

2°) Brooks (1924) détermine le degré d'hémolyse par la comparaison colorimétrique du liquide surnageant avec un étalon colorimétrique.

3°) Osborn traite le liquide obtenu après centrifugation par de l'acide chlorhydrique décinormal et la couleur de l'hématine acide résultant de cette réaction est mesurée avec un hémoglobininmètre.

4°) Ponder et Yeager, Kesten et Zucker (1928) utilisent une cellule photo-électrique dans ce but.

Ces méthodes ne présentent pas un grand intérêt pratique, elles donnent des résultats assez inconstants.

QUATRIÈME TYPE DE MÉTHODE

La mesure du temps nécessaire pour réaliser l'hémolyse complète d'un volume constant d'hématies sensibilisées par un volume fixe de complément à doser a été utilisée par Eagle (1929).

L'activité du complément est en raison inverse du temps nécessaire pour arriver à l'hémolyse complète. La valeur du pouvoir complémentaire s'obtient par comparaison avec les temps d'hémolyse de sérums normaux. Osborn (1931) perfectionne ce procédé en l'adaptant au dosage de très petites quantités de sérum à étudier, il crée une micro-méthode. Pour cela, il emploie une pipette capillaire spéciale. Les proportions du sérum à doser et des autres éléments du complexe hémolytique restent les mêmes, les quantités deviennent plus petites.

Ponder apporte plus de précision dans la lecture des résultats, il saisit le moment exact où se produit l'hémolyse complète en suivant les progrès de la réaction lytique à travers une cuve de photomètre (Stuphenphotometer), immergée dans un bain-marie à température constante.

Que faut-il penser des différentes techniques que nous venons d'étudier? Notre méthode, déjà vieille, nous a toujours donné des résultats assez réguliers pour avoir une certaine valeur comparative.

Les procédés de dosage de Meersseman et de Scartozzi nous paraissent être les plus sûrs en l'état actuel de nos connaissances. L'établissement de la suspension type d'hématies par une lyse artificielle à la saponine tel que l'a imaginé Scartozzi constitue un grand progrès dans la recherche de systèmes hémolytiques équivalents.

Meersseman semble avoir résolu de la façon la plus logique et la plus élégante l'élimination du facteur hémolysine naturelle.

Nous proposons donc d'utiliser la méthode de Meersseman en y remplaçant les suspensions iso-opacimétriques par les suspensions iso-lipoïdiques de Scartozzi.

Dans les cas où l'on dispose d'une très faible quantité de liquide à étudier, la micro-méthode peut rendre d'utiles services.

CONSERVATION DE L'ALEXINE

L'extrême labilité de l'alexine constitue une propriété fort gênante pour son emploi répété dans certaines réactions sérologiques.

Aussi a-t-on essayé, sinon de conserver intégralement le pouvoir alexique, du moins de le stabiliser à un taux assez élevé pendant un temps relativement long. Cela permet d'éviter des saignées trop fréquentes et d'obtenir des résultats comparatifs sans recourir nécessairement chaque fois au dosage préliminaire du complément. Un tel dosage constitue cependant une garantie supplémentaire. Sa réalisation se trouve du reste simplifiée par la faiblesse des variations du pouvoir alexique ; il s'agit plutôt d'une simple vérification d'une valeur déjà connue. Un protocole à 3 tubes suffit le plus souvent.

I. — Moyen physique : la température

Les sérologistes qui se sont occupés de la conservation du complément se sont d'abord adressés à un moyen physique : la température.

Besson, un des premiers, conseille l'emploi de la glacière pour la conservation du complément. Morgenroth recommande de garder le sérum de cobaye à l'état congelé.

En utilisant diverses températures, on observe les résultats suivants : à -6° , le pouvoir complémentaire diminue rapidement pendant le premier jour, reste ensuite constant jusqu'au troisième jour ; au neuvième jour, il a perdu 50 % de son activité initiale ; des températures aux environs de -10° permettent d'obtenir des délais d'utilisation plus intéressants ; enfin Brownie, Mackie, Weston prétendent qu'à -15° le pouvoir alexique des sérums est conservé, sans diminution appréciable, pendant trois mois ; mais de telles températures sont difficiles à obtenir couramment dans les glacières de laboratoire.

II. — Moyens chimiques et physico-chimiques

Certains traitements chimiques, en particulier l'action des solutions hypertoniques, tout en inactivant momentanément la propriété complémentaire des sérums, empêchent tout changement de leur structure colloïdale et conservent, de cette façon, leur activité alexique latente. Il suffit de ramener les sérums ainsi conservés à leurs conditions primitives de pH et d'iso-tonicité pour libérer cette activité.

1) MÉTHODE A L'ACIDE CARBONIQUE.

Valley et Mac Alpine (1928) ont mis au point la méthode de conservation classique de l'alexine par l'acide carbonique. Elle consiste à garder le sérum sous une pression de CO_2 . Utilisant ce procédé, Osborn trouve que le sérum perd environ 50 % de son activité initiale au bout d'un mois de conservation.

2) EMPLOI DE SOLUTIONS HYPERTONIQUES CHLORURÉES SODIQUES.

L'usage de ces solutions a la faveur de nombreux sérologistes (Austin, 1914 ; Thomson, 1916 ; Ronchèse, etc.).

Friedberger fixe le taux d'hypertonicité à 8,5 ou 9 pour cent. Il suffit de diluer le sérum conservé au 1/10 en eau distillée au moment de l'emploi pour retrouver les conditions d'iso-tonicité (8 à 9 pour 1000). On obtient ainsi une alexine diluée au 1/10 qui présente une activité très suffisante quand on opère sur du sérum de cobaye.

Massol et Nowaczinski ajoutent au sérum un dixième d'eau salée saturée ; la baisse du titre alexique est nulle au bout de 10 jours, de 25 % après 18 jours et de 75 % en 25 jours.

3) PROCÉDÉ DE RONCHÈSE AU FLUORURE DE SODIUM (Procédé I).

Ronchèse préconise l'addition de 0 gr. 04 de fluorure de sodium par centimètre cube de sérum, mais ce produit étant presque toujours acide, il convient de maintenir la neutralité par un tampon de carbonate de sodium.

4) PROCÉDÉ DE GINSBURG ET KALININ (Procédé I).

Ces auteurs traitent le sérum à volume égal par une solution contenant 10 % de chlorure de sodium et 4 % d'acide borique, ou bien 5 % de chlorure de strontium et 4 % d'acide borique.

Osborn observe une très légère diminution du pouvoir complémentaire au bout de deux mois de conservation. Cette méthode est également employée par Cantor (1929), Sonnenschein (1930), Fea (1933), Nastasi (1933). Elle est particulièrement recommandée par Scartozzi (1936). Sonnenschein, effectuant de nombreuses réactions de Wassermann avec du sérum frais de cobaye et de l'alexine conservée par le procédé I de Ginsburg et Kalinin, trouve des résultats identiques dans 616 cas sur un total de 631 réactions.

5) PROCÉDÉ DE RAHMY MODIFIÉ PAR HAMMERSCHMIDT.

Mélanger :

Sérum de cobaye	4 parties
Solution d'acétate de sodium à 10 % ..	6 parties

Diluer au 1/4 au moment de l'emploi.

6) PROCÉDÉ DE RUFFNER.

Ajouter au sérum à égal volume une solution conservatrice contenant 10 % d'acétate de sodium et 4 % d'acide borique.

L'auteur, qui a pratiqué de nombreux B. W. avec des alexines ainsi conservées, a toujours obtenu d'excellents résultats. Sonnenschein confirme cette opinion après les avoir utilisées dans 1.822 réactions de B. W. ; dans chaque cas, un contrôle était effectué avec du sérum frais et les résultats douteux vérifiés par la réaction de Meinicke.

7) PROCÉDÉ DE RONCHÈSE (Procédé II).

En 1931, Ronchèse améliore la conservation par la solution chlorurée sodique hypertonique en évitant les fermentations dues aux souillures possibles. Le Sunoxol permet d'atteindre ce but sans altérer la structure colloïdale des sérums.

La solution conservatrice est ainsi composée :

Chlorure de sodium	54 gr.
Sunoxol R. A. L.	0 gr. 25
Eau distillée Q. S. pour 1000.	

Pour effectuer la solution hypertonique du sérum de cobaye, on mélange :

Sérum de cobaye	2 volumes
Solution conservatrice	1 volume

Au moment de l'emploi, on dilue :

Complément conservé hypertonique.	1 volume
Eau distillée	3 volumes

ce qui donne un complément iso-tonique.

D'éminents sérologistes français, tels que Demanche et Diacono, conseillent l'emploi d'alexine conservée par le procédé de Ronchèse n° II. Au bout de 15 à 20 jours de conservation, à la température du laboratoire, l'activité alexique est encore suffisamment stable.

8) PROCÉDÉ DE GINSBURG ET KALININ (Procédé II).

En 1933, Ginsburg et Kalinin décrivent un nouveau mode de conservation du complément : à 100 cc de sérum de cobaye, ils ajoutent 5 gr. de sulfate de soude et 4 gr. d'acide borique. La dissolution se fait en 24 heures. Un sérum ainsi traité et gardé à la glacière conserverait son activité complémentaire pendant cinq mois.

9) PROCÉDÉ DE STEEG (1938).

Cet auteur trouve que le bromure de sodium dilué en eau physiologique a une action conservatrice très marquée sur l'alexine de cobaye.

Il opère de la façon suivante : verser dans le sérum à conserver un volume égal de solution de bromure de sodium à 5 % en solution physiologique.

Le taux de l'alexine resterait encore assez élevé au bout de 28 jours.

10) ACTIVITÉ COMPLÉMENTAIRE DU PLASMA DE SANG CONSERVÉ PAR LE CITRATE DE SOUDE.

En étudiant les modifications des divers constituants du sang conservé, nous avons été amené à faire les remarques suivantes concernant l'activité alexique du plasma citraté.

Si le citrate de soude a une action nuisible sur le sérum, il protège nettement le complément quand il agit sur le sang total.

Lors de nos premiers essais, nous avons utilisé le milieu de conservation I H T ou du sang citraté à raison de 1 gr. 20 de citrate de soude pour 100 gr. de sang.

L'activité alexique des plasmas provenant de sangs ainsi traités et gardés à la glacière à 4° fléchit légèrement pendant les dix

premiers jours et reste ensuite à peu près constante jusqu'au 75^{me} jour où elle représente encore 50 à 60 % de son taux initial. Il est inutile de renverser souvent les ampoules contenant le sang citraté ; la durée et la fréquence du contact du plasma avec hématies et leucocytes, nous ont paru être sans influence et l'on connaît bien, d'autre part, l'action nocive de l'agitation.

Ultérieurement, nous avons repris notre expérimentation en essayant divers milieux citratés : 1) citrate pH 7,4 ; 2) solution de Wurmser acide pH 4,6 ; 3) citrate pH 7,4 + vitamine C ; 4) solution de Wurmser + vitamine C ; 5) citrate pH 7,4 + maltose ; 6) solution de Wurmser + maltose ; 7) citrate pH 7,4 + vitamine C + maltose ; 8) solution de Wurmser + maltose + vitamine C.

L'étude comparative de ces différentes solutions nous a incité à porter notre choix sur le mélange citraté citrique de pH acide, formulé par Wurmser et dont voici la composition :

Acide citrique	3 gr.
Soude caustique	1 gr.
Eau distillée	100 gr.

Nous conseillons d'employer ce milieu dans les proportions suivantes :

Solution conservatrice	1 volume
Sang	5 volumes

Conserver à la glacière aux environs de 4°.

L'hémolyse produite au moyen de cette alexine s'accompagne d'un phénomène de gélification dû à la coagulation plasmatique.

Nos plasmas citratés avaient été préparés dans un but thérapeutique. La pénurie de cobayes nous a amené à utiliser l'alexine humaine ainsi conservée pour les réactions de déviation du complément et les résultats sont en tous points superposables à ceux obtenus avec de l'alexine de cobaye. Ce procédé a l'avantage de permettre l'emploi immédiat de l'alexine conservée sans dilution préalable, le milieu restant isotonique. Nous donnerons plus loin les indications concernant l'utilisation de cette alexine au cours des réactions de Bordet et Gengou. Cependant ce complément humain ainsi conservé n'est pas à recommander dans les cas de B W du L. C R et dans la réaction de Weinberg.

11) ALEXINE CONSERVÉE DANS LE SANG HÉPARINÉ.

Pour Grimberg, M^{me} Chamraeff et M^{me} Pellier, l'héparine serait encore préférable, car elle s'est montrée dénuée de tout pouvoir nocif sur l'alexine. On emploie une solution à 1 % d'héparine à raison de 1 cc. de solution anticoagulante pour 10 cc. de sang.

III. — Compléments desséchés

L'idée de conserver l'alexine par dessiccation des sérums a suscité de nombreuses recherches (Friedberger : Massol et Grysez ; Noguchi ; Koenigsfeld ; Schill ; Schmitz ; Pohlmann, Stern et Franck ; Blumenthal et Bermann ; Romanow ; Virgillio ; Høess). C'est à Friedberger que revient le mérite d'avoir réalisé le premier (1907) la préparation du « complément desséché ». Il trouva qu'à l'état sec le sérum résistait mieux à la dégradation résultant du vieillissement et à l'action des rayons ultra-violets. Cependant, comme le fait observer Osborn, la dessiccation exige certaines précautions ; en particulier, il importe d'éviter les élévations de température trop brusques et surtout la production de mousse trop abondante : par exemple, un sérum placé dans un dessiccateur à 37° et sous 20 à 25 millimètres de mercure donne une mousse très importante.

Craigie préconise la technique suivante indiquée par Osborn : « Le sérum placé dans un récipient peu profond est desséché dans le vide en présence de chlorure de calcium. Le récipient doit être isolé, par une gaze, du verre du dessiccateur. L'évaporation rapide à basse pression abaisse la température et rend inutile l'adjonction d'un réfrigérant. Au bout de 5 heures, il se produit un dépôt sec floconneux : 1 gr. pour 16 cc. de sérum. Au moment de l'emploi on redissout le sérum soit en le ramenant directement à l'isotonie, soit en passant par des solutions hypertoniques intermédiaires. » Les alexines desséchées gardées en tubes scellés à la température du laboratoire possèderaient encore 25 % de leur activité initiale au bout de neuf mois de conservation (Hartley, Eagleton et Okell, 1923).

Personnellement, nous n'avons aucune expérience de la question. Nous laisserons à Diacono le soin de conclure quant à la valeur des compléments desséchés : « Ces alexines seraient surtout utilisables pour la réaction de Bordet-Wassermann : mais de capacité fixatrice diminuée et de puissance hémolytique inconstante et inégale, elles ne sauraient remplacer le sérum frais de cobaye ».

ALEXINE ARTIFICIELLE

En 1907, Noguchi réussit à produire une hémolyse avec un mélange composé de protéines sériques et d'acides gras saponifiés ; pour que la lyse eut lieu, il fallait que les hématies fussent préalablement sensibilisées. Dès lors, on crut avoir découvert la préparation « d'alexine artificielle » et de nombreux chercheurs tels que Liebermann et Fenivessy (1911), Liebermann (1921), Freund (1923), Born (1925) proposèrent de nouvelles formules pour l'élaboration de « compléments synthétiques ». D'une façon générale, ces différents procédés utilisent l'action d'oléates de sodium, de chlorure de calcium, en présence de globulines. Voici par exemple la méthode de Born :

On effectue le mélange suivant : 5 cc. d'une solution à 0,1 % d'oléate de sodium dans l'alcool méthylique + 1 cc. d'une solution alcoolique de chlorure de calcium ; cette solution doit être neutre et limpide. On cherche ensuite quelle est la quantité de sérum de lapin inactivé dilué au 1/10 capable d'enrayer au bout d'une demi-heure l'hémolyse de 0 cc. 5 de suspension d'hématies de mouton provoquée par 0 cc. 5 du mélange de savon et de chlorure de calcium, sous un volume total de 2 cc. 5. Une quantité de sérum de lapin inactivé, correspondant à dix fois le volume indiqué par le titrage, est mélangée à 2 cc. de la solution de savon et de chlorure de calcium. On aura soin de verser goutte à goutte la solution de savon dans le sérum dilué au 1/10.

Freund remplace le sérum de lapin par une solution de globulines.

Quelle est la valeur de telles préparations ? Malgré certaines ressemblances apparentes, il existe de nombreuses différences de constitution et même d'action entre alexine artificielle et complément naturel. Les alexines artificielles sont beaucoup moins thermostables ; elles ne se décomposent pas dans les constituants habituels et, fait capital, elles ne présentent jamais de régénération partielle. Enfin, pour Hans Schmidt l'activité de ces alexines se produirait même sur des hématies non sensibilisées contrairement

aux assertions de Noguchi. Goldie déclare que l'acide oléique permet d'obtenir des hémolyses biologiques avec des doses d'alexine inférieures à la dose minima hémolytique pour un système donné ; cette influence favorable paraît devoir être rapportée à la destruction des substances anti-alexiques du système hémolytique. Ceci est fort probable car dans les essais de Goldie l'action de renforcement due à l'acide oléique a été particulièrement nette dans les systèmes avec alexine de cheval, or l'on sait combien les pouvoirs complémentaires des sérums de chevaux sont déficients par suite de la présence de substances anti-alexiques. Il paraît donc difficile de parler de similitude d'action entre le complément et les alexines artificielles ; du reste, si ces dernières ont été fréquemment employées au cours de diverses réactions de déviation du complément, elles n'ont pas toujours donné des résultats réguliers. Freund (1923), effectuant 15 réactions de BW en utilisant parallèlement compléments naturel et artificiel, n'obtient des réponses concordantes que dans 11 cas seulement.

Nous ne pouvons donc conseiller l'usage de l'alexine artificielle au cours des réactions sérologiques courantes.

A propos des réactions de déviation du complément

La faculté que possède l'alexine de se fixer sur les complexes antigènes-anticorps, la mise en évidence de cette fixation par l'emploi des systèmes hémolytiques, servirent de base à l'ingénieuse méthode de diagnostic biologique imaginée par Bordet et Gengou et connue sous le nom de réaction de déviation du complément.

Nous avons déjà exposé le principe de l'épreuve de Bordet et Gengou, maintenant si classique ; nous n'y reviendrons pas. Ses applications sont multiples, elles se proposent d'atteindre deux buts principaux : 1° grâce à l'emploi d'un antigène connu, il est possible de rechercher la présence ou l'absence de l'anticorps correspondant dans un sérum à examiner ; 2° réciproquement, au moyen d'un sérum possédant une sensibilisatrice déterminée, on peut établir la nature de l'antigène à identifier.

Il n'est point dans notre intention de décrire ou même d'énumérer toutes ces applications. Nous voudrions simplement rappeler brièvement quelques faits d'un intérêt purement doctrinal et indiquer ensuite certains détails techniques améliorant la valeur de ces réactions ou facilitant les conditions de leur utilisation. C'est à l'étude de la propriété alexique que nous devons leur mise au point.

En bactériologie, les réactions de fixation du complément permettent généralement d'obtenir des résultats strictement spécifiques. En parasitologie, cette spécificité est beaucoup moins étroite. L'épreuve de Bordet-Gengou donne plutôt lieu à des réactions de groupe, comme on le constate lorsqu'on emploie des antigènes d'helminthes par exemple. Cela peut expliquer les reproches que l'on a pu adresser à la réaction de Ghedini-Weinberg-Parvu utilisée dans le diagnostic du kyste hydatique. En dehors des antigènes bactériens (figurés ou toxines) ou parasitaires (extraits aqueux ou alcooliques), la méthode de déviation du complément a pu s'étendre de façon considérable grâce à l'utilisation d'antigènes les plus divers : cancer, grossesse (Vayssière), etc... Cependant, l'interprétation des résultats demande une certaine prudence, la spécificité de ces réactions ne s'étant pas toujours bien vérifiée. De toutes les applications de la méthode générale de Bordet et Gengou, celle qui connut le plus de succès est incontestablement la réaction de Bordet-Wassermann. Or, il est curieux de constater que cette dernière ne se rattache aux réactions de déviation du

complément que par la façon de mettre en évidence la présence ou l'absence d'alexine libre dans le second temps de l'épreuve : le système hémolytique reste en effet le moyen idéal pour détecter l'alexine. Mais le phénomène de fixation relève d'un principe biologique différent selon qu'il s'agit de la méthode générale de Bordet et Gengou ou de la réaction de Wassermann.

A l'origine, cette dernière ne fut qu'une simple application de l'épreuve type de Bordet et Gengou. L'utilisation d'antigènes (foies d'hérédo-syphilitiques) contenant des tréponèmes permettait de rechercher dans le sérum du malade à examiner des anticorps spécifiques vis-à-vis de ces tréponèmes. Telle fut la première interprétation de la réaction de Bordet-Wassermann que nous appelons BW et que les Belges dénomment BGS (réaction de Bordet et Gengou appliquée à la Syphilis).

Cependant, le jour où P. Marie Levaditi, Armand Delille, obtinrent des résultats aussi remarquables avec des extraits de foie ou de cœur provenant de sujets sains exempts de syphilis, il devint impossible de rapporter le phénomène de fixation du complément à la sensibilisation de l'antigène par l'anticorps spécifique correspondant. Quelques auteurs s'accrochèrent néanmoins à cette ancienne conception, en prétendant que les sérums de syphilitiques possédaient non pas des anticorps antimicrobiens, antitréponèmes, mais des autoanticorps résultant de la mise en liberté d'autoantigènes à certaines périodes évolutives de l'infection syphilitique. Ces autoantigènes ne seraient autres que des produits de désintégration tissulaire provoquée spécifiquement par le tréponème. Nous n'avons pas à discuter les bases d'une hypothèse aussi fragile. L'explication actuelle de la réaction de Wassermann paraît beaucoup plus vraisemblable ; elle fait appel à une propriété physique du complexe complémentaire : celle de se laisser facilement adsorber sur les flocculats quelle que soit leur nature.

Or, pour une raison que nous ignorons encore à peu près totalement, les sérums syphilitiques sont susceptibles de flocculer dans certaines conditions établies de façon purement empirique. Ces flocculations non spécifiques au sens immunologique du mot, peuvent du reste se produire dans des conditions analogues mais différentes au cours d'autres affections. N'avons-nous pas vérifié sous la direction du professeur Sautet que les sérums de chiens atteints de « Leishmaniose » étaient susceptibles de flocculer des antigènes mélaniques destinés cependant au diagnostic du paludisme ?

La réaction de Wassermann revient donc à mettre en évidence la présence ou l'absence de floculation que produit un sérum en présence d'une substance dite antigène. Le terme d'antigène est du reste tout à fait impropre dans ce cas, puisqu'il ne représente plus un principe étroitement spécifique susceptible d'engendrer des anticorps correspondants, mais de simples suspensions colloïdales ou lipoïdes dont la composition est relativement variée. Cependant, consacré par l'usage qu'on en fit avec juste raison dans la réaction de Bordet-Gengou type, il s'est étendu progressivement à toutes les autres épreuves sérologiques et a été maintenu depuis.

En somme, la réaction de Wassermann est sous la dépendance d'un phénomène physico-chimique sans rapport avec l'immunité : la floculation. Elle ne diffère des réactions dites « de floculation » (Kahn, Meinicke, etc.), que par la façon de mettre en évidence le même phénomène physique. Ces dernières font appel à des artifices destinés à renforcer la floculation elle-même et à la rendre directement perceptible soit à l'œil nu, soit à l'aide d'appareils optiques comme la loupe, les miroirs, l'ultrafloculoscope de Vigne ou le photomètre de Vernes. Dans la réaction de Wassermann, l'indicateur de la floculation est représenté par le système hémolytique du second temps de l'épreuve ; suivant que la floculation existe ou non, l'alexine est ou n'est pas adsorbée dans le premier temps de l'épreuve et, en conséquence, les globules rouges sensibilisés du second temps subissent ou non l'hémolyse.

Quand on connaît l'affinité du principe complémentaire pour les précipités les plus ténus, on peut affirmer avec F. et M.-L. Chevrel que « l'indicateur constitué par un système hémolytique bien dosé dépasse en efficacité tous les moyens optiques ; il ne laisse passer, sans l'enregistrer, aucun degré de floculation si minime soit-il ».

Dans ces conditions, il paraît difficile de prétendre que ce genre de réaction manque de sensibilité. Si un tel reproche a pu être fait, avec une certaine exagération, semble-t-il, c'est en réalité à la qualité de l'antigène qu'il s'adressait et non au principe même de la méthode. La preuve en est que lorsqu'on pratique des réactions de Wassermann avec des antigènes destinés habituellement aux réactions sensibles dites de « floculation », l'hypersensibilité de ces antigènes se trouve exagérée à un tel point que l'interprétation des résultats devient fort dangereuse pour ne pas dire impossible.

En effet, bien souvent l'hypersensibilité a lieu aux dépens de la spécificité.

TITRAGE DE L'ALEXINE DANS LES RÉACTIONS DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT.

On a pu reprocher, en outre, aux réactions de fixation du complément de se prêter moins facilement que d'autres à la mesure de l'intensité des modifications sérologiques chez les sujets malades. Cette objection a peu de valeur, l'utilisation de la méthode de Calmette et Massol permet de déterminer le nombre d'unités alexiques fixées et, par là même, de se faire une idée assez précise de la richesse en anticorps d'un sérum ou de l'importance de sa floculation en présence de l'antigène choisi. Mais encore faut-il que l'unité alexique représente quelque chose de relativement fixe, ayant une valeur constante dans le temps. C'est pourquoi nous proposons d'appliquer à la technique de Calmette et Massol les procédés de dosages rigoureux des constituants du système hémolytique et de l'alexine que nous avons indiqués dans un chapitre précédent.

UTILISATION D'UNE ALEXINE PROVENANT DE PLASMA CONSERVÉ EN MILIEU CITRATÉ.

Lorsqu'on en a la possibilité, le mieux est d'utiliser le sérum de cobaye dans les réactions de déviation du complément. Comme le fait remarquer Rubinstein, son manque ou son extrême pauvreté en sensibilisatrice naturelle anti-mouton, sa grande activité dans les phénomènes d'hémolyse, en font le réactif alexique de choix. Cependant, il n'est pas toujours facile d'entretenir un élevage de cobayes suffisamment nombreux pour satisfaire tous les besoins du laboratoire ; la pénurie actuelle de ces animaux nous a obligé à nous adresser à d'autres alexines fraîches ou conservées.

Les divers procédés de conservation que nous avons indiqués (solutions hypertoniques, froid, etc.) peuvent avoir leur utilité. Parmi eux, l'expérience nous a incité à porter notre choix sur le plasma humain conservé par citration avec la solution de Wurmser.

Après avoir effectué un titrage préalable de l'alexine nous conseillons d'employer deux unités alexiques. Le mélange du premier temps de la réaction (antigène + sérum à examiner + alexine) sera effectué sous un volume total relativement faible (inférieur ou égal à 0 cc. 5) ; on ne diluera pas en eau physiologique



B. W. négatif - H dans les 5 tubes (coagulum clair)



*B. W. positif - H⁰ dans les 4 premiers tubes (avec antigène) (coagulum opaque)
tube V H³ témoin sans antigène*

pour porter le volume total à 1 cc. 25 par exemple. De cette façon, la concentration en citrate de soude reste telle qu'elle empêche toute coagulation plasmatique, elle demeure toutefois inférieure à celle qui gêne la fixation du complément.

Si nous insistons sur ce petit détail de technique, ce n'est pas parce qu'une coagulation plasmatique d'emblée amenant un état de gel pourrait s'opposer à la fixation du complément, nous avons démontré plus haut qu'une telle réaction pouvait fort bien s'effectuer dans ce milieu physique ; c'est simplement pour faciliter l'introduction du système hémolytique du second temps de l'épreuve ; il est en effet difficile de mélanger une suspension globulaire liquide à un gel pré-existant. En opérant comme il est indiqué, ce n'est qu'après avoir ajouté le sérum hémolytique que la coagulation se produit ; elle ne gêne nullement la fin de la réaction, puisqu'après une demi-heure d'étude on obtient un gel rosé clair en cas de négativité et un gel rosé trouble en cas de positivité.

Nous avons pratiqué ainsi 10 réactions de Bordet et Gengou avec des antigènes microbiens (T. A. B. *Melitensis*) et sur une plus vaste échelle 100 réactions de Bordet-Wassermann avec antigène de Bordet-Ruelens. Les résultats furent en tous points comparables à ceux obtenus avec des alexines fraîches de sérum de cobaye ou de sérum humain. Ce complément humain ainsi conservé n'est cependant pas indiqué dans les cas de B W pratiqué sur le Liq. Céphal. rach. ou de réaction de Weinberg.

Il importe de vérifier la négativité du Wassermann d'un sérum humain avant de l'employer comme alexine.

Ci-contre, l'aspect photographique de la lecture des réactions de déviation du complément pratiquées au moyen d'alexine provenant de plasma citraté.

Elimination du pouvoir inhibiteur exercé par l'alexine au cours des hémocultures

A propos des effets bactéricides de l'alexine, nous avons étudié les facteurs qui régissent cette action inhibitrice. Nous nous bornerons donc à indiquer les moyens qui permettent de s'y opposer dans une certaine mesure.

Pour ensemercer le plus de germes possible, il est recommandé d'opérer sur une quantité de sang relativement importante ; mais, d'autre part, on a intérêt à diminuer la concentration du complexe bactéricide (anticorps + alexine) contenu dans le sang ensemençé en diluant assez fortement ce sang dans le milieu de culture approprié. Il est indiqué de ne pas descendre au-dessous d'une proportion fixée à 1 volume de sang pour 8 volumes de milieu de culture liquide. Pour ce double motif, l'emploi de veinules bouillons est à condamner si l'on ne prend pas le soin d'opérer une dilution plus grande dès l'arrivée du prélèvement au laboratoire.

A côté de cette précaution générale, il existe des procédés élégants et scientifiques qui ont pour but d'accélérer la positivité des hémocultures.

Pour combattre les effets empêchants du complexe bactéricide contenu dans le sang ensemençé, on peut s'attaquer aux deux éléments de ce complexe : l'anticorps spécifique d'une part, l'alexine de l'autre. Pour annihiler l'anticorps spécifique (sensibilisatrice, agglutinine), il suffira d'ajouter un antigène stérilisé semblable au microbe présumé dont on recherche la présence. Ceci n'est pas toujours facile, il est beaucoup plus pratique de neutraliser le facteur non spécifique : l'alexine.

Dans ce but, on peut employer des substances qui inhibent la fixation du complément. Tel est le cas du citrate de soude ; son action est particulièrement efficace à des concentrations de 30 à 40 p. 1000, comme l'ont établi les travaux d'Agasse-Lafont, Grimberg et Mutermilch ; P. Carnot et Henri Lavergne avaient fixé ce taux à 20 p. 1000. Dans le cas de germes du groupe Coli T. A. B., la proportion indiquée par Agasse-Lafont semble préférable ; c'est du reste à cette concentration que le citrate de soude inhibe l'hémolyse d'hématies sensibilisées. Mais certains germes ne supportent que des concentrations bien inférieures ; tel est le cas du gono-

coque (taux de citratisation ≤ 10 p. 1000), du Streptocoque (≤ 4 p. 1000), de certains Staphylocoques (5 à 10 p 1000). Au-dessus de ces taux, le citrate de soude agit comme antiseptique. L'emploi de citrate de soude à 30 p. 1000 devra donc être réservé au groupe T. A. B.

C'est par son action anti-complémentaire bien connue que la bile favorise les hémocultures de groupe T. A. B. ; telle est la conclusion des recherches de A. Grimberg, Mutermilch, Agasse-Lafont et M^{lle} H. Pellier. Conradi et Fiessinger avaient rapporté cette action favorisante de la bile à une inhibition de la coagulation, coagulation qui enserre les germes dans le réseau de fibrine. De Jong et Hauduroy prétendent que la bile détruit le bactériophage. En réalité, c'est en s'opposant à l'action alexique du sang ensemencé que la bile exerce cet effet favorisant, tandis que sur des germes en milieu de culture et en l'absence de sang elle possède une légère action antiseptique. Quand on pratique une hémoculture sur bile, l'effet anti-complémentaire compense et même dépasse largement l'action antiseptique et c'est pourquoi on a avantage à employer ce liquide pour les hémocultures du groupe T. A. B. Dans ce cas, il constitue, en outre, un excellent milieu sélectif. En dehors de ce groupe de germes, la bile peut être utilisée avec profit pour les hémocultures à streptocoques ou à staphylocoques, il suffira de la diluer au 1/10. Bien entendu, ce procédé est tout à fait contre-indiqué en cas de recherche du pneumocoque ; le phénomène de Neufeld doit être présent à l'esprit.

Un autre corps, le polyanéthosulfonate de sodium (liquoïde), connu pour ses effets fortement anti-complémentaires, se trouve favoriser le développement et la multiplication des germes dans le sang. Ce corps, employé à la concentration de 1 p. 500, convient parfaitement aux hémocultures des germes suivants : groupe Coli T. A. B., Streptocoque, Staphylocoque, Entérocoque, Melitensis, Pneumocoque, Méningocoque, Gonocoque, B. de Pfeiffer, B. pyocyanique.

Enfin, il est un moyen beaucoup plus général et beaucoup plus biologique pour supprimer l'action bactéricide de l'alexine. Ce procédé, imaginé par A. Ranque et C. Senez, consiste à dévier l'alexine libre en la fixant sur un autre antigène que le microbe recherché ; les hématies humaines du sang ensemencé peuvent remplir ce rôle antigénique ; il suffit de les sensibiliser de façon convenable par un sérum anti-humain pour qu'elles deviennent

aptes à fixer l'alexine. Après avoir prélevé 10 cc de sang dans 60 cc de bouillon, on ajoute 3 cc 5 d'un sérum lapin anti-humain stérile et très actif (dilution au 1/50) ; il se produit une agglutination massive des hématies au fond du flacon s'accompagnant d'hémolyse partielle ; on pratique ensuite des repiquages toutes les 12 heures. Grâce à cet artifice, les cultures sont généralement beaucoup plus précoces. Nous avons pu enregistrer des avances allant, dans certains cas, jusqu'à 20 heures, sur des témoins ne contenant pas de sensibilisatrice anti-humaine.

Complément et défense de l'organisme Possibilité d'une utilisation thérapeutique de l'alexine

Sans pouvoir affirmer que l'activité complémentaire est absolument indispensable à la défense de l'organisme, il est vraisemblable qu'elle représente un facteur adjuvant d'une importance considérable.

On pourrait objecter qu'au cours des infections, le titre alexique est souvent normal et même parfois augmenté ; il se peut qu'il y ait là une réaction de défense, réaction qui se maintient jusqu'à la période finale de la maladie et qui lâche brutalement quelques jours ou quelques heures avant la mort, comme on le constate habituellement. Suivant la qualité du terrain ou la nature de l'agent causal, la diminution du pouvoir complémentaire a lieu à un stade plus ou moins avancé de la maladie. Dans les infections suraiguës comme la peste septicémique expérimentale, le titre complémentaire ne s'abaisse que dans les heures qui précèdent l'issue fatale (Hahnn). On peut dire, dans ce cas, que la gravité de l'affection tient plus à la virulence des germes qu'à une déficience des facultés réactionnelles. Ceci est encore plus vrai dans le cas du charbon ; les animaux morts de cette infection ont encore un sérum alexique (Bordet, 1905). Comme nous l'avons indiqué, un titre alexique élevé n'a aucune signification pronostique à plus ou moins longue échéance. Nous croyons pouvoir affirmer, par contre, qu'en dehors des phénomènes anaphylactiques entraînant des modifications passagères, une chute continue et progressive survenant à la période tardive d'une affection est le plus souvent de très fâcheux augure. C'est à ce moment que surviennent généralement les complications infectieuses. Certains faits expérimentaux viennent à l'appui de ces constatations cliniques. D'après Trössarelli, l'infection staphylococcique, chez le cobaye hypoalexique, s'accompagne généralement d'une septicémie grave et mortelle ; au contraire, le titre alexique est élevé quand elle donne une affection localisée constituée par un abcès bien limité. Encore plus intéressantes sont les observations de Moore : les cobayes appartenant à la race à complément déficient qu'il avait mise en évidence résistaient moins bien à l'injection de germes pathogènes. Leur immunité générale naturelle paraissait beaucoup plus abaissée que l'immunité artificielle

provoquée par vaccination. Mais, nous dira-t-on, la dificience alexique n'est peut-être qu'un des symptômes qui accompagnent un état général altéré, sans représenter pour cela la cause d'une insuffisance d'immunité. Autrement dit, il n'est pas prouvé que l'alexine intervienne obligatoirement dans la défense de l'organisme.

Cependant, les constatations expérimentales qui ont trait à la bactéricidie alexique, le déclenchement des phénomènes hémolytiques *in vivo*, enfin et surtout la supériorité indubitable, dans certains cas, des transfusions médicales sur la sérothérapie, nous paraissent constituer des arguments sérieux en faveur de cette fonction alexique.

On peut donc se demander si l'apport d'alexine ne compléterait pas utilement les médications spécifiques. Osborn nous cite certaines tentatives faites dans ce sens.

Le liquide céphalo-rachidien est pratiquement dépourvu de toute activité complémentaire, comme nous l'avons dit ; l'infection méningée aiguë elle-même, malgré les modifications chimiques et cytologiques qu'elle entraîne, n'élève pas considérablement ce titre alexique si faible. C'est pour remédier à cette déficience que Mackenzie et Martin injectent du sérum frais de convalescent, ou le sérum des malades eux-mêmes dans l'espace sous-arachnoïdien de sujets atteints de méningite cérébro-spinale. Ils apportent ainsi et l'anticorps spécifique et l'alexine ; leurs résultats s'en trouvent sensiblement améliorés. Fondé confirme cette opinion. C'est dans le même but que Kolmer, Toyama et Matsunami ajoutent au sérum anti-méningococcique du sérum frais humain ou même de l'alexine de cobaye. Bunin et Wiess conseillent vivement ce procédé thérapeutique.

Dans le torrent circulatoire où l'alexine est normalement présente, un apport de complément étranger ne semble pas dépourvu d'intérêt, surtout au moment où le titre alexique commence à baisser ; mais même avant cette période, une transfusion de complément peut prévenir dans une certaine mesure cet épuisement alexique. De plus, comme le rappelle Osborn et comme l'avaient dit fort judicieusement Ward et Wright, « il faut avoir présent à l'esprit le phénomène de Neisser-Wechsberg lorsqu'on injecte de fortes doses d'anticorps ». Il est donc utile de remédier aux conséquences de cet excès de fixation en introduisant de l'alexine libre.

Etant donné sa toxicité vis-à-vis des hématies et des albumines humaines, il faut renoncer à l'utilisation de l'alexine du sérum de

cobaye pourtant si active. Le mieux est de s'adresser au sang humain, c'est ce que l'on fait dans les transfusions médicales, ou mieux, dans les immuno-transfusions, où l'on apporte l'anticorps en même temps que l'alexine. L'emploi de sang humain comme source alexique a, dans ce dernier cas, un autre avantage : l'alexine est toujours plus active vis-à-vis d'un germe quand elle provient du sérum qui contient également les anticorps spécifiques contre ce germe. Nous avons montré toute l'importance de cette appropriation des alexines aux sensibilisatrices.

En un temps où l'on a tendance à négliger, ou même à abandonner complètement la conception des réactions immunitaires spécifiques et où l'on rapporte volontiers tous les résultats de l'immuno-transfusion à un phénomène de shock, il ne semble pas inutile de rappeler l'efficacité thérapeutique de certains sérums de convalescents. Là, il est difficile de nier l'intervention d'un anticorps spécifique. Cependant, nous pensons qu'il y aurait avantage à utiliser, en outre, la propriété alexique du sang de convalescent, et c'est pourquoi il nous paraîtrait intéressant de remplacer le plus souvent possible la sérothérapie par la plasmathérapie de convalescent.

Grâce à la solution de Wurinser, nous avons le moyen de conserver la propriété alexique jusqu'à deux mois après le prélèvement ; en cas d'épidémie, on aurait largement la possibilité d'utiliser tout le plasma dans ce délai. Nous avons pu constater, d'autre part, que les anticorps spécifiques (sensibilisatrice) n'étaient nullement modifiés par ce procédé de conservation. Un plasma ainsi traité présente, au bout d'un mois et demi de conservation, la même richesse en anticorps que le sérum provenant du même sang.

De plus, en dehors des plasmas de convalescents ayant effectué une maladie déterminée, les plasmas *alexiques* d'individus normaux sont susceptibles de rendre les plus grands services. N'est-ce point là une des principales causes du succès des transfusions médicales ?

On peut supposer que le sujet malade fournit lui-même une partie des anticorps ; un individu normal possède souvent des anticorps véritablement naturels ou résultant d'une affection contractée dans le jeune âge, voire même d'une affection inapparente. Peut-être de tels anticorps constituent-ils des facteurs agissant dans les transfusions médicales ? Dans tous les cas, il est toujours possible d'envisager l'intervention du couple anticorps-alexine.

La chimiothérapie elle-même ne doit pas faire oublier complètement les processus de défense biologique. Si les sulfamides possèdent une certaine action antiseptique *in vitro*, elles paraissent exercer leurs effets bactéricides surtout *in vivo* ; parmi les hypothèses qu'on a pu avancer au sujet de cette action, il en est une qui nous intéresse plus particulièrement : Lavaditi et ses collaborateurs pensent que le sulfanilamide, en lysant les capsules des microbes, les rend plus accessibles à la phagocytose ; ne pourrait-on pas ajouter que grâce à ces lésions, les germes touchés par le sulfanilamide se trouvent sensibilisés à l'action alexique. Jeanneney et Cator ont du reste combiné les deux facteurs dans leurs « Cataphylactotransfusions ».

Il est donc permis d'envisager tous les avantages que l'on peut retirer de la transfusion quand elle est possible ou de la plasmathérapie lorsque celle-ci est seule réalisable.

Des essais de transfusion de sang conservé ont déjà été effectués avec succès dans l'infection puerpérale par Anderodias, Jeanneney, G. Pery, G. Rigenbach et L. Lafon. Ces résultats très encourageants incitent à reprendre cette thérapeutique sur une plus vaste échelle en utilisant tout particulièrement les plasmas de convalescents.

TRAVAUX PERSONNELS

I. — Etablissement du titre alexique des sérums de diverses espèces animales

Ce titre a été établi en employant la méthode personnelle que nous avons décrite dans le chapitre « Dosage du complément ».

1° — SÉRUMS DE COBAYE.

Le titrage a été effectué avec des sérums dilués au 1/16 en eau physiologique.

Les doses hémolitiques minima pour obtenir une hémolyse complète H^3 , avec notre système hémolitique, ont été les suivantes :

A) Cobayes provenant de l'élevage du Laboratoire de Biologie Médicale, 16, rue Dragon (juin 1936) :

Cobaye 1 (jeune)	H^3 à 0 cc 15 dilué au 1/16
Cobaye 2 (jeune)	H^3 à 0 cc 10 » »
Cobaye 3 (gros)	H^3 à 0 cc 15 » »
Cobaye 4 (femelle)	H^3 à 0 cc 20 » »
Cobaye 5 (femelle)	H^3 à 0 cc 15 » »
Cobaye 6 (jeune)	H^3 à 0 cc 20 » »
Cobaye 7 (moyen)	H^3 à 0 cc 15 » »
Cobaye 8 (moyen)	H^3 à 0 cc 10 » »

B) Cobayes provenant d'un élevage de Carcès (février 1937) :

Cobaye 1 (moyen)	H^3 à 0 cc 10 dilué au 1/16
Cobaye 2 (vieux)	H^3 à 0 cc 15 » »
Cobaye 3 (jeune)	H^3 à 0 cc 15 » »
Cobaye 4 (moyen)	H^3 à 0 cc 20 » »
Cobaye 5 (femelle)	H^3 à 0 cc 20 » »

C) Cobayes provenant d'un élevage « Trigance », à Mazargues (avril 1937) :

Cobaye 1 (moyen)	H^3 à 0 cc 10 dilué au 1/16
Cobaye 2 (jeune)	H^3 à 0 cc 10 » »
Cobaye 3 (vieille femelle)	H^3 à 0 cc 20 » »
Cobaye 4 (jeune)	H^3 à 0 cc 15 » »

D) Cobayes provenant d'un élevage à Campagne « Soleil », Mazargues (août 1937) :

Cobaye 1 (jeune)	H ³ à 0 cc 15 dilué au 1/16
Cobaye 2 (gros)	H ³ à 0 cc 20 » »
Cobaye 3 (grosse femelle pleine)	H ³ à 0 cc 10 » »
Cobaye 4 (jeune)	H ³ à 0 cc 05 » »
Cobaye 5 (vieux)	H ³ à 0 cc 15 » »
Cobaye 6 (moyen)	H ³ à 0 cc 20 » »

E) Cobayes provenant de la Faculté de Pharmacie, Laboratoire de Physique (septembre 1938) :

Cobaye 1 (race d'Aubagne)	H ³ à 0 cc 15 dilué au 1/16
Cobaye 2 » »	H ³ à 0 cc 10 » »
Cobaye 3 » »	H ³ à 0 cc 20 » »
Cobaye 4 (race Joliette)	H ³ à 0 cc 20 » »
Cobaye 5 » »	H ³ à 0 cc 20 » »
Cobaye 6 » »	H ³ à 0 cc 15 » »
Cobaye 7 » »	H ³ à 0 cc 25 » »

F) Cobayes provenant du Laboratoire de Parasitologie (Pharo), (octobre 1938) :

Cobaye 1 (moyen)	H ³ à 0 cc 20
Cobaye 2 (gros)	H ³ à 0 cc 15
Cobaye 3 (vieille femelle)	H ³ à 0 cc 10

En résumé, l'unité alexique du sérum de cobaye varie de 0 cc 0098 à 0 cc 0120 de *sérum non dilué*.

2° — SÉRUMS DE LAPIN.

Les sérums étudiés étaient dilués à moitié en eau physiologique.

A) Elevage laboratoire (lapines vierges pour réaction de Brouha) :

Lapine 1 (Brouha —)	H ³ à 0 cc 60 dilué au 1/2
Lapine 2 (Brouha —)	H ³ à 0 cc 55 » »
Lapine 3 (Brouha +)	H ³ à 0 cc 70 » »
Lapine 4 (Brouha —)	H ³ à 0 cc 70 » »
Lapine 5 (Brouha +)	H ³ à 0 cc 55 » »
Lapine 6 (Brouha —)	H ³ à 0 cc 60 » »
Lapine 7 (Brouha +)	H ³ à 0 cc 65 » »

B) Elevage « Trigrance ».

Lapin 1 (jeune)	H ³ à 0 cc 65 dilué au 1/2
Lapin 2 (vieux mâle)	H ³ à 0 cc 60 » »
Lapin 3 (jeune)	H ³ à 0 cc 55 » »
Lapin 4 (jeune)	H ³ à 0 cc 55 » »

L'unité alexique du sérum de lapin se situe donc aux environs de 0 cc 30 de sérum non dilué.

3° — SÉRUMS DE POULET.

Le sérum sont titrés sans dilution (janvier 1939) :

Poulet 1 (vieux)	H ³ à 0 cc 60 non dilué
Poulet 2 (vieille poule)	H ³ à 0 cc 30 » »
Poulet 3 (vieille poule)	H ³ à 0 cc 50 » »
Poulet 4 (vieux)	H ³ à 0 cc 35 » »
Poulet 5 (jeune)	H ³ à 0 cc 25 » »
Poulet 6 (jeune)	H ³ à 0 cc 25 » »
Poulet 7 (jeune)	H ³ à 0 cc 20 » »
Poulet 8 (jeune)	H ³ à 0 cc 10 » »
Poulet 9 (vieux)	H ³ à 0 cc 60 » »
Poulet 10 (vieux)	H ³ à 0 cc 45 » »
Poulet 11 (vieux)	H ³ à 0 cc 40 » »
Poulet 12 (jeune)	H ³ à 0 cc 55 » »
Poulet 13 (jeune)	H ³ à 0 cc 15 » »
Poulet 14 (jeune)	H ³ à 0 cc 45 » »
Poulet 15 (jeune)	H ³ à 0 cc 20 » »
Poulet 16 (jeune)	H ³ à 0 cc 50 » »
Poulet 17 (jeune)	H ³ à 0 cc 20 » »
Poulet 18 (jeune)	H ³ à 0 cc 20 » »

En conclusion, l'unité alexique du sérum de poulet est en moyenne de 0 cc 25 de sérum non dilué pour les animaux jeunes et de 0 cc 35 pour les animaux vieux.

4° — MOUTON.

Le sérum est titré sans dilution.

A) Mouton (Trigance) utilisé comme source d'hématies pour les réactions de déviation du complément :

1 ^{er} dosage (janvier 1938)	H ³ à 1 cc 20
2 ^{me} dosage (février 1939)	H ³ à 1 cc 15
3 ^{me} dosage (février 1939, après saignée de 30 cc)	H ³ à 0 cc 95

B) Moutons des Abattoirs de Marseille (mars 1939).

Mouton 1	H ³ à 0 cc 90
Mouton 2	H ³ à 0 cc 85
Mouton 3	H ³ à 1 cc 30

L'unité alexique se situe donc aux environs de 1 cc de sérum de mouton non dilué.

5° — CHIEN.

Le sérum est dilué au 1/3 en eau physiologique :

Chienne 1 (jeune chienne)	H ³ à 0 cc 35 dilué au 1/3
Chien 2 (Cabassu)	H ³ à 0 cc 30 » »
Chien 3 (Cabassu)	H ³ à 0 cc 40 » »
Chien 4 (Cabassu)	H ³ à 0 cc 35 » »
Chien 5 (Kala-azar : Cabassu)	H ³ à 0 cc 45 » »

L'unité alexique moyenne se situe aux environs de 0 cc 12 de sérum non dilué.

6° — CHEVAL.

Le sérum est employé pur non dilué :

Cheval 1 (gros cheval de trait)	H ^{2,5} à 1 cc 50
Cheval 2 (gros cheval de trait)	H ^{2,5} à 1 cc 30
Cheval 3 (pur sang)	H ³ à 1 cc 55
Cheval 4 (jeune cheval de barque)	H ³ à 1 cc 30
Cheval 5 (jument pleine)	H ^{2,5} à 1 cc 55
Cheval 6 (cheval après saignée de 1 litre)	H ³ à 1 cc 35

L'unité hémolytique est donc très élevée, aux environs de 1 cc 50, encore n'obtient-on souvent que des hémolyses partielles.

Détermination du titre alexique normal des sérums humains

Après quelques tâtonnements, nous en sommes venu à adopter le système hémolytique que nous avons décrit dans notre méthode.

Dans le cas du dosage de sérum humain, nous conseillons de sensibiliser notre suspension type avec 3 unités hémolytiques calculées par rapport au sérum de cobaye. Les sérums à étudier sont dilués au 1/3 en eau physiologique. La réaction comprend 15 tubes: I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, XIV, XV. Le premier tube contient 0 cc 05 de sérum alexique, les autres tubes contiennent des doses progressives de 0 cc 05, de sorte que le tube XV contient 0 cc 75 de sérum alexique. Pour simplifier l'énoncé des résultats, nous mentionnons simplement en chiffre romain le numéro du tube à partir duquel a lieu l'hémolyse complète. Le pouvoir alexique varie en raison inverse de ce nombre. Les résultats obtenus ont été les suivants :

					Pouvoir compl.
1° Arc....,	50 ans	Prélèvement à 7 h. :	Azotémie 0 gr. 35	VIII	
2° Vern....,	Femme, 28 ans	» à 10 h. :	Azotémie 0 gr. 40	VI	
3° Herm....,	Homme, 32 ans	» à 9 h. :	Hématol. normale	VIII	
4° Dest....,	Homme, 60 ans	» à 15 h. :	Azotémie 0 gr. 38	IX	
5° Etien....,	Homme, 27 ans	» à 17 h. :	B. W. négatif	VIII	
6° Ard....,	Homme, 33 ans	» à 10 h. :	B. W. négatif	VI	
7° Ven....,	Femme, 43 ans	» à 10 h. :	Azotémie 0 gr. 32	VII	
8° Sen....,	Homme, 65 ans	» à 11 h. :	B. W. négatif	VII	
9° Roch....,	Homme, 35 ans	» à 15 h. :	B. W. négatif	VIII	
10° Giov....,	Femme, 45 ans	» à 16 h. :	Azotémie 0 gr. 40	VIII	
11° Carlev....,	Femme, 28 ans	»	Hématol. normale	VII	
12° Port....,	Homme, 53 ans	» à 9 h. :	Glycémie normale	VI	
18° Merm....,	Homme, 28 ans	» à 11 h. :	B. W. négatif	VII	
19° Orsin....,	Femme, 43 ans	» à 10 h. :	Glycémie normale	VI	
20° Arrig....,	Homme, 55 ans	» à 14 h. 30	B. W. négatif	VIII	
21° Nastas....,	Femme, 42 ans	» à 16 h. :	B. W. négatif	IX	
22° Farc....,	Homme, 32 ans	» à 11 h. :	Hématol. normale	V	
23° Gast....,	Homme, 34 ans	» à 15 h. :	B. W. négatif	VIII	
24° de Giov....,	Femme, 45 ans	» à 9 h. :	Azotémie 0 gr. 35	VI	
25° Salvar....,	Femme, 33 ans	» à 17 h. :	B. W. négatif	VIII	
26° Quer....,	Homme, 52 ans	» à 10 h. :	Glycémie 0 gr. 80	VII	
27° Berg....,	Homme, 29 ans	» à 11 h. :	B. W. positif	VIII	
28° Dutf....,	Femme, 41 ans	» à 9 h. :	Azotémie 0 gr. 45	VII	
29° Roq....,	Homme, 29 ans	» à 15 h. :	B. W. négatif	VIII	
30° Ang....,	Femme, 58 ans	» à 8 h. :	{Azotémie Glycémie-normale	VII	
31° Ang....,	Homme, 60 ans	» à 8 h. 30	{Azotémie 0 gr. 42 Glycémie 0 gr. 95	VI	
32° Vern....,	Femme, 40 ans	» à 15 h. :	Azotémie 0 gr. 40	IX	

Par conséquent, avec des sérums d'individus normaux, l'hémolyse complète apparaît entre les tubes V et IX ; au-dessous de V, le sérum peut être considéré comme hyperalexique ; au-dessus de IX, le titre alexique est inférieur à la normale. N'oublions pas que le pouvoir alexique varie en raison inverse du n° du tube.

Variations expérimentales

I. — COMPLÉMENT ET VITAMINE A.

Tous les dosages de vitamine A ont été effectués dans le Laboratoire de Physique Biologique de M. le Professeur Chevallier.

Premier groupe de dosages (20 septembre 1938).

On prélève par ponction cardiaque le sang de 8 cobayes de la race Joliette, race déficiente en vitamine A ; on dose le pouvoir complémentaire du sérum de chaque échantillon et on obtient :

Cobaye 1 (moyen)	H ³ à 0 cc 20 dilué au 1/16
Cobaye 2 (gros)	H ³ à 0 cc 25 » »
Cobaye 3 (jeune)	H ³ à 0 cc 15 » »
Cobaye 4 (moyen)	H ³ à 0 cc 20 » »
Cobaye 5 (gros)	H ³ à 0 cc 25 » »
Cobaye 6 (jeune)	H ³ à 0 cc 20 » »
Cobaye 7 (jeune)	H ³ à 0 cc 15 » »
Cobaye 8 (jeune)	H ³ à 0 cc 20 » »

Le mélange de ces 8 sérums est pratiquement dépourvu de vitamine A.

Dosage de la vitamine A : Σ (traces).

Pendant 8 jours, on administre *per os* à chacun de ces cobayes X gouttes de solution huileuse de vitamine A (Castel-Chabre).

Au 8^{me} jour, on saigne à blanc ces cobayes.

Les titres alexiques sont les suivants :

Cobaye 1	H ³ à 0 cc 20 dilué au 1/16
Cobaye 2	H ³ à 0 cc 20 » »
Cobaye 3	H ³ à 0 cc 20 » »
Cobaye 4	H ³ à 0 cc 25 » »
Cobaye 5	H ³ à 0 cc 20 » »
Cobaye 6	H ³ à 0 cc 25 » »
Cobaye 7	H ³ à 0 cc 15 » »
Cobaye 8	H ³ à 0 cc 20 » »

Un dosage de vitamine A pratiqué sur le mélange de ces sérums donne : vitamine A : 0,60.

Dans ce cas, la vitamine A ne paraît exercer aucune influence sur le pouvoir alexique.

Deuxième groupe d'expériences.

Le 22 octobre 1938, on prélève le sang de deux chevaux et on titre leur pouvoir complémentaire et les teneurs en vitamine A :

Cheval 1 (gros, bai)	P.C. $H^{2,5}$ à 1 cc 5 non dilué. Vit A: 0,10
Cheval 2 (moyen, gris) ..	P.C. $H^{2,5}$ à 1 cc 8 non dilué. Vit A: Σ (traces indosables)

A partir du 22 octobre 1938, on administre des doses quotidiennes de 100 cc de solution huileuse de vitamine A (Castel Chabre) *per os*.

Le 28 octobre 1938, nouveaux dosages :

Cheval 1	P.C. H^3 à 1 cc 7 non dilué. Vitamine A: 0,30
Cheval 2	P.C. H^3 à 1 cc 6 non dilué. Vitamine A: 0,32

On continue l'administration quotidienne de 100 cc. de solution de vitamine A.

Le 30 octobre 1938 : apparition d'intolérance sous forme de diarrhée chez le cheval bai (N° 1). Les mêmes symptômes apparaissent le 1^{er} novembre 1938 chez le cheval N° 2.

Le 1^{er} novembre 1938, nouveaux dosages :

Cheval 1	P.C. H^3 à 1 cc 6 non dilué. Vitamine A: 0,22
Cheval 2	P.C. H^3 à 1 cc 7 non dilué. Vitamine A: 0,24

On ramène la dose journalière à 0 cc 50 de solution huileuse de vitamine A, la diarrhée continue.

Le 8 novembre 1938, nouveaux dosages :

Cheval 1	P.C. H^3 à 1 cc 7 non dilué. Vitamine A: 0,17
Cheval 2	P.C. H^3 à 1 cc 5 non dilué. Vitamine A: 0,15

Les variations de la teneur en vitamine A semblent donc sans retentissement sur la valeur du pouvoir complémentaire.

L'administration de vitamine A n'a pas modifié l'élaboration des agglutinines. Ces deux chevaux ont été injectés le 10, le 17 et le 21 novembre 1938 avec des émulsions tuées de *Melitensis*. Le 25 novembre 1938, leur sérum agglutinait au 1/1.000 le *Melitensis*, taux que nous obtenons habituellement dans ces délais.

Troisième groupe de dosages.

Nous avons mesuré parallèlement les pouvoirs complémentaires et la teneur en vitamine A chez des poulets provenant d'un marchand de volailles (place du Marché-des-Capucins). Ces poulets étaient saignés devant nous. Nous prélevions 3 cc de sérum pour le dosage de l'alexine qui était pratiqué de 6 à 8 heures après la saignée. Le reste du sérum était confié au Laboratoire de physique de M. le professeur Chevallier où s'effectuaient les dosages de vitamine A.

Les résultats furent les suivants :

Le 14 mai 1938 :

	P. C.	Vit. A
Poulet n° 1	H ³ à 0 cc 35 non dilué	Σ (traces)
Poulet n° 2	H ³ à 0 cc 30 »	0,33
Poulet n° 3	H ³ à 0 cc 50 »	0,21
Poulet n° 4	H ³ à 0 cc 35 »	0,76
Poulet n° 5	H ³ à 0 cc 25 »	0,96
Poulet n° 6	H ³ à 0 cc 25 »	0,53
Poulet n° 7	H ³ à 0 cc 20 »	0,40
Poulet n° 8	H ³ à 0 cc 10 »	1,07

Le 22 mai 1938, nouveaux dosages :

Poulet n° 1	H ³ à 0 cc 60 non dilué	Σ
Poulet n° 2	H ³ à 0 cc 45 »	0,40
Poulet n° 3	H ³ à 0 cc 55 »	0,15
Poulet n° 4	H ³ à 0 cc 45 »	0,20
Poulet n° 5	H ³ à 0 cc 50 »	0,18
Poulet n° 6	H ³ à 0 cc 30 »	0,50
Poulet n° 7	H ³ à 0 cc 35 »	0,55
Poulet n° 8	H ³ à 0 cc 25 »	0,70
Poulet n° 9	H ³ à 0 cc 20 »	0,80
Poulet n° 10	H ³ à 0 cc 20 »	0,66

Il semble donc y avoir un certain parallélisme entre la richesse en vitamine A et la valeur du pouvoir complémentaire (qui varie en raison inverse de la dose minima hémolytique).

Quatrième groupe de dosages.

On prend 6 lapins d'âges variés et on titre le pouvoir alexique du sang de chacun d'eux, sang prélevé par ponction veineuse à la veine marginale de l'oreille ; étant donnée la faible quantité de sang que l'on peut soustraire à un lapin, on pratique le dosage de

la vitamine A sur le mélange de ces sérums, ce qui donne une valeur moyenne de la teneur en vitamine A.

Lapin 1		H ³ à 0 cc 45 dilué au 1/2 en eau physiologique			
Lapin 2		H ³ à 0 cc 60	»	»	»
Lapin 3		H ³ à 0 cc 45	»	»	»
Lapin 4		H ³ à 0 cc 60	»	»	»
Lapin 5		H ³ à 0 cc 45	»	»	»
Lapin 6		H ³ à 0 cc 50	»	»	»

Le dosage de la vitamine A pratiqué sur le mélange de ces 6 sérums donne : Vitamine A : 0,54.

Les lapins 1, 2, 3 sont soumis à des régimes carencés en vitamine A. Les lapins 4, 5, 6 continuent à recevoir une nourriture normale.

Le dixième jour, on pratique de nouveaux dosages sur le sang provenant d'une saignée à blanc :

Lapin 1		H ³ à 0 cc 50 dilué au 1/2 en eau physiologique			
Lapin 2		H ³ à 0 cc 65	»	»	»
Lapin 3		H ³ à 0 cc 45	»	»	»

La teneur moyenne en vitamine A est tombée à 0,20.

Les lapins témoins (4, 5, 6) ont les titres alexiques suivants :

Lapin 4		H ³ à 0 cc 55 dilué au 1/2 en eau physiologique			
Lapin 5		H ³ à 0 cc 50	»	»	»
Lapin 6		H ³ à 0 cc 45	»	»	»

La teneur moyenne en vitamine A est de 0,50.

En conclusion, les variations de richesse en vitamine A paraissent sans retentissement sur le pouvoir alexique.

Cinquième groupe de dosages.

8 cobayes subissent un régime carencé en vitamine A dans le but de provoquer une septicémie éberthienne par le procédé de Sédan et Hermann (inoculation sous conjonctivale).

Ces 8 cobayes appartiennent à une race (Aubagne) ayant un taux de vitamine normal. Avant de subir le régime carencé, on

titre les pouvoirs alexiques du sérum de ces cobayes en prélevant 3/4 de cc par ponction cardiaque.

Cobaye 1	H ³ à 0 cc 20 dilué au 1/16 en eau physiologique			
Cobaye 2	H ³ à 0 cc 25	»	»	»
Cobaye 3	H ³ à 0 cc 15	»	»	»
Cobaye 4	H ³ à 0 cc 25	»	»	»
Cobaye 5	H ³ à 0 cc 15	»	»	»
Cobaye 6	H ³ à 0 cc 20	»	»	»
Cobaye 7	H ³ à 0 cc 15	»	»	»
Cobaye 8	H ³ à 0 cc 25	»	»	»

La quantité de sang est trop faible pour pratiquer un dosage de vitamine A même en prenant le mélange des sangs de ces 8 cobayes.

Au dixième jour du régime carencé, les titres alexiques sont les suivants :

Cobaye 1	H ³ à 0 cc 25 dilué au 1/16 en eau physiologique			
Cobaye 2	H ³ à 0 cc 20	»	»	»
Cobaye 3	H ³ à 0 cc 20	»	»	»
Cobaye 4	H ³ à 0 cc 30	»	»	»
Cobaye 5	Mort le 4 ^{me} jour			
Cobaye 6	H ³ à 0 cc 20 dilué au 1/16 en eau physiologique			
Cobaye 7	H ³ à 0 cc 15	»	»	»
Cobaye 8	Mort le 6 ^{me} jour			

Les cobayes restants reçoivent 500.000 bacilles d'Eberth par inoculation sous-conjonctivale, en même temps que 2 témoins non carencés. Dans aucun cas nous n'avons réussi à provoquer la moindre infection générale, nous n'avons même pas enregistré d'hyperthermie. Le cobaye 4 succomba quelques heures après l'injection sous l'effet du choc. Les autres cobayes survécurent.

Nous avons recommencé avec 2 cobayes carencés en vitamine A ; au bout de 8 jours, les titres alexiques étaient de :

Cobaye 1	H ³ à 0 cc 25 dilué au 1/16 en eau physiologique			
Cobaye 2	H ³ à 0 cc 30	»	»	»

L'inoculation de 800.000 bacilles d'Eberth sous la conjonctive ne produit aucune septicémie. Survie parfaite.

Nous avons alors soumis 4 cobayes à un jeûne total pendant 36 heures.

Cobaye 1 (race Aubagne)	Mort après 24 h. de jeûne
Cobaye 2 (race Aubagne)	H ³ à 0 cc 40 dilué au 1/16
Cobaye 3 (race Aubagne)	H ³ à 0 cc 25 » »
Cobaye 4 (race Joliette)	H ³ à 0 cc 30 » »
(déficient en vitamine A)	

On inocule 800.000 bacilles d'Eberth par voie sous-conjonctivale.

Le cobaye 3 résiste à cette inoculation, aucun phénomène général.

Le cobaye 2 présente à la 15^{me} heure une élévation thermique ; une hémoculture à la 24^{me} heure, pratiquée par ponction cardiaque, est positive à l'éberth sur bile en 48 heures.

Le cobaye 4 meurt vers la 30^{me} heure ; une hémoculture pratiquée à la 24^{me} heure est négative.

Donc, le procédé de Sédan et Hermann exige pour réussir non pas une carence en vitamine A qui ne paraît pas diminuer la résistance de l'animal vis à vis du bacille d'Eberth, mais un jeûne total de 36 heures qui rend le cobaye sensible à l'injection.

Sixième expérience.

Le 3 février 1939, on prélève 30 cc de sang à la saphène sur une jeune chienne (11 mois) :

Vitamine A : 1,20.

Pouvoir alexique H³ à 0 cc 35 dilué au 1/3 en eau physiologique.

Indice opsonique (avec une émulsion de staphylo à 50.000.000 de germes par cc) (Méthode Gaultier) : 0,62.

On administre 5 cc de solution huileuse de vitamine A pendant 10 jours.

Le 13 février 1939, on obtient, après un nouveau prélèvement :
Vitamine A : 1,60.

Pouvoir complémentaire : H³ à 0 cc 45 dilué au 1/3 en eau physiologique.

Indice opsonique : 0,80.

Le pouvoir phagocytaire a été calculé en nous inspirant de la méthode de René Gaultier.

On détermine le pouvoir phagocytaire d'un sérum en numérant la moyenne des bactéries englobées par un certain nombre de leucocytes en présence de ce sérum.

Les leucocytes employés étaient des leucocytes de chiens (couche blanchâtre superficielle du culot de centrifugation du sang citraté).

L'émulsion microbienne contenait 50.000.000 de staphylocoques.

L'index opsonique était calculé par rapport au pouvoir opsonique d'un sérum humain normal.

La coloration des lames était faite à la thionine phéniquée.

Avant le traitement vitaminé :

Le pouvoir opsonique du sérum de notre chienne était de

$$\frac{250 \text{ (germes englobés)}}{100 \text{ (leucocytes)}} = 2,50$$

Le pouvoir opsonique du sérum humain témoin était de

$$\frac{400 \text{ (germes englobés)}}{100 \text{ (leucocytes)}} = 4$$

$$\text{L'indice opsonique} = \frac{2,5}{4} = 0,62$$

Après le traitement vitaminé :

Pouvoir opsonique du sérum de la chienne

$$\frac{260 \text{ (germes englobés)}}{100 \text{ (leucocytes)}} = 2,60$$

Pouvoir opsonique du sérum humain témoin

$$\frac{325 \text{ (germes englobés)}}{100 \text{ (leucocytes)}} = 3,25$$

Indice opsonique :

$$\frac{2,60}{3,25} = 0,80$$

Pouvoir complémentaire et température

3 cobayes sont soumis à un traitement diathermique.

2 plaques avec 13 milliampères pendant 45 minutes.

Pouvoir alexique avant diathermie :

Cobaye 1		H ³ à 0 cc 15	dilué au 1/16	en eau physiologique
Cobaye 2		H ³ à 0 cc 25	»	»
Cobaye 3		H ³ à 0 cc 20	»	»

Pouvoir alexique après 45 minutes de diathermie :

Cobaye 1		H ³ à 0 cc 15	dilué au 1/16	en eau physiologique
Cobaye 2		H ³ à 0 cc 20	»	»
Cobaye 3		H ³ à 0 cc 20	»	»

Donc, pas de variation appréciable.

Pouvoir complémentaire et pouvoir bactéricide

Nous inspirant des travaux de Jeanneney, Castanet et Cator (Nouvelle méthode de mesure du pouvoir hémobactéricide, ses applications pratiques), nous avons recherché les taux de dilutions de suspensions microbiennes auxquels le pouvoir hémobactéricide se manifeste le plus nettement.

Pour le staphylocoque, la suspension optima, se prêtant facilement à la mesure du pouvoir bactéricide, a été en moyenne de 100.000 germes par cc (mélangé avec le sang : concentration 50.000 germes par cc).

Pour le colibacille, les chiffres sont extrêmement variables, nous nous sommes fixé à 250.000 germes par cc (mélangé avec le sang : concentration 125.000 germes par cc).

Le pouvoir bactéricide ainsi obtenu n'a pas une valeur bien absolue, c'est pourquoi il est préférable de le comparer aux pouvoirs bactéricides d'individus normaux. Les variations de virulence et de résistance des germes sont en effet relativement difficiles à éviter, les résultats peuvent changer d'une expérience à l'autre. Par contre, au cours d'une même série de dosages, cette méthode permet d'obtenir des résultats parfaitement comparables entre eux.

La méthode de Jeanneney, Castanet et Cator, très élégante dans le cas du staphylocoque, n'est pas applicable au colibacille (les colonies s'étendent trop facilement et sont moins nettes).

De plus, les numérations de colonies sur d'aussi faibles surfaces (cercle de 2 cm. de diamètre) ne nous ont pas paru toujours faciles. C'est pourquoi nous sommes revenu à la méthode classique qui utilise la boîte de Pétri. Le mélange sang suspension microbienne est incorporé dans la gélose fondue coulée en boîte de Pétri. On laisse prendre la gélose et on place la boîte à l'étuve. De cette façon, les colonies apparaissent très distinctement en 48 heures. On suppose que chaque colonie correspond à 1 germe ensemencé.

Nous avons calculé les dilutions de germes à ensemercer de façon que, théoriquement, le nombre de ceux-ci ne dépasse pas 100 ; il est en effet très facile de compter 100 colonies sur une boîte de Pétri.

Voici notre façon d'opérer :

La mesure peut s'effectuer sur du sérum ou sur du sang total citraté à 1 % (à ce taux, le pouvoir alexique n'est point inhibé et le citrate de soude n'est nullement antiseptique vis à vis du staphylocoque ou du colibacille à cette concentration).

1°) On mélange :

2 cc de sang citraté ou de sérum et

2 cc d'une suspension de staphylocoque doré à 100.000 germes par cc.

On obtient donc 4 cc. d'un mélange contenant $100.000/2 = 50.000$ germes par cc.

2°) Immédiatement après avoir effectué ce mélange, on en prélève 1 cc que l'on dilue au $1/500$ en eau physiologique stérile. 1 cc de cette solution contient donc théoriquement 100 germes. On incorpore donc 1 cc de cette solution dans la gélose fondue et coulée en boîte de Pétri. On laisse prendre la gélose. On renverse la boîte de Pétri et on la met à l'étuve.

Cet ensemencement E_1 doit donner en 48 heures un nombre N_1 de colonies voisin de 100.

3°) La partie restante du mélange sang-suspension microbienne est placée à l'étuve. On l'y laisse 2 heures, temps pendant lequel s'effectue l'action bactéricide.

On opère ensuite comme pour l'ensemencement témoin E_1 : dilution au $1/500$ et ensemencement de 1 cc. de cette dilution en gélose fondue en boîte de Pétri ; on laisse se solidifier ; on renverse la boîte et on met à l'étuve.

En 48 heures, cet ensemencement E_2 donne un nombre N_2 de colonies.

$$\frac{N_1}{N_2} = P : \text{pouvoir bactéricide}$$

Pour le colibacille, la marche à suivre est identique. La concentration de la suspension microbienne est différente, elle est de 250.000 germes. Il conviendra donc de diluer le mélange à suspension microbienne sérum ou sang à examiner au 1/1.250.

Remarque : dans le cas du sang citraté, au moment de la dilution il faut bien agiter le mélange pour éviter une coagulation.

A — ACTION DE L'ALEXINE VIS-A-VIS DU STAPHYLOCOQUE.

On mesure le pouvoir bactéricide des mélanges suivants :

1° 1 cc de sérum antistaphylo + 0 cc 5 de sérum de lapin chauffé :

$$\frac{N_1 = 102}{N_2 = 90} = P = 1,13$$

1 cc de sérum antistaphylo + 0 cc 5 de sérum de lapin frais :

$$\frac{N_1 = 96}{N_2 = 86} = P = 1,11$$

Le titre alexique du sérum de lapin frais correspondait à H^3 à 0 cc 30 non dilué.

2° 1 cc de sérum antistaphylo + 0 cc 5 de sérum de lapin chauffé :

$$\frac{N_1 = 98}{N_2 = 95} = P = 1,03$$

1 cc de sérum antistaphylo + 0 cc 5 de sérum de lapin frais :

$$\frac{N_1 = 96}{N_2 = 92} = P = 1,04$$

Le titre alexique du sérum de lapin frais était de H^3 à 0 cc 40 non dilué.

3° 1 cc de sérum antistaphylo + 0 cc 25 de sérum de cobaye chauffé :

$$\frac{N_1 = 88}{N_2 = 86} = P = 1,02$$

1 cc de sérum antistaphylo + 0 cc 25 de sérum de cobaye frais :

$$\frac{N_1 = 85}{N_2 = 79} = P = 1,07$$

Le titre alexique du sérum de cobaye était de H^3 à 0 cc 10 dilué au 1/16.

4°. 1 cc de sérum antistaphylo + 0 cc 5 de sérum de cobaye chauffé :

$$\frac{N_1 = 92}{N_2 = 90} = P = 1,02$$

1 cc de sérum antistaphylo + 0 cc 5 de sérum de cobaye frais :

$$\frac{N_1 = 86}{N_2 = 80} = P = 1,07$$

Ce groupe d'expériences prouve que le sérum antistaphylococcique est à peu près dénué de pouvoir bactéricide ; l'alexine ne paraît pas intervenir : il n'y a pas de différence appréciable entre sérums frais et sérums chauffés et entre sérums de cobaye et sérums de lapin.

Cependant, en pathologie, nous avons relevé le cas d'un homme qui présentait à la fin de l'évolution d'une leucémie une infection généralisée à staphylocoques et à streptocoques. Son titre alexique était à peu près nul. Son pouvoir bactéricide vis-à-vis du staphylocoque était : $P = 1,08$, tandis que celui de témoins normaux était : $P = 4,15$ et $5,65$.

B — ACTION DES SÉRUMS ALEXIQUES SUR LE COLIBACILLE.

a) Pouvoir bactéricide des mélanges suivants :

1° 1 cc de sérum anticolibacillaire + 0 cc 5 de sérum de lapin chauffé 56° :

$$\frac{N_1 = 110}{N_2 = 98} = P = 1,12$$

1 cc de sérum anticolibacillaire + 0 cc 5 de sérum de lapin frais :

$$\frac{N_1 = 114}{N_2 = 60} = P = 1,90$$

Le titre alexique du sérum de lapin était H^3 à 0 cc 35 non dilué.

2° 1 cc de sérum anticolibacillaire + 0 cc 5 de sérum de lapin chauffé 56° :

$$\frac{N_1 = 120}{N_2 = 102} = P = 1,17$$

1 cc de sérum anticolibacillaire + 0 cc 5 de sérum de lapin frais :

$$\frac{N_1 = 115}{N_2 = 56} = P = 2,05$$

Le titre alexique du sérum de lapin était H^3 à 0 cc 30 non dilué.

3° 1 cc de sérum anticolibacillaire + 0 cc 25 de sérum de cobaye chauffé :

$$\frac{N_1 = 112}{N_2 = 99} = P = 1,13$$

1 cc de sérum anticolibacillaire + 0 cc 25 de sérum de cobaye frais :

$$\frac{N_1 = 115}{N_2 = 42} = P = 2,73$$

Le titre alexique du sérum de cobaye était H^3 à 0 cc 25 de sérum dilué au 1/16.

4° 1 cc de sérum anticolibacillaire + 0 cc 50 de sérum de cobaye chauffé :

$$\frac{N_1 = 108}{N_2 = 97} = P = 1,11$$

1 cc de sérum anticolibacillaire + 0 cc 50 de sérum de cobaye frais :

$$\frac{N_1 = 112}{N_2 = 36} = P = 3,11$$

Le titre alexique du sérum de cobaye était H^3 à 0 cc 20 de sérum dilué au 1/16.

5° 1 cc de sérum anticolibacillaire + 0 cc 50 de sérum de cobaye chauffé :

$$\frac{N_1 = 118}{N_2 = 109} = P = 1,08$$

1 cc de sérum anticolibacillaire + 0 cc 50 de sérum de cobaye frais :

$$\frac{N_1 = 123}{N_2 = 41} = P = 3,00$$

Le titre alexique du sérum de cobaye était H^3 à 0 cc 25 de sérum dilué au 1/16.

b) *Pouvoir bactéricide du sang humain vis-à-vis du colibacille.*

1° Sang citraté 1 % chauffé demi-heure à 56° :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{98}{80} = P = 1,22$$

Sang citraté 1 % frais :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{102}{43} = P = 2,37$$

Le titre alexique du sérum de ce sang était H³ au tube VIII.

2° Sang citraté 1 % chauffé demi-heure à 56° :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{106}{107} = 0,99 = P \text{ (erreur ?)}$$

Sang citraté 1 % frais :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{110}{40} = 2,75 = P$$

Le titre alexique du sérum de ce sang était H³ au tube VII.

3° Sang citraté 1 % chauffé demi-heure à 56° :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{96}{82} = 1,17 = P$$

Sang citraté 1 % frais :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{93}{30} = 3,10 = P$$

Le titre alexique du sérum de ce sang était H³ au tube VI.

4° Sang citraté 1 % chauffé demi-heure à 56° :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{105}{97} = 1,08 = P$$

Sang citraté 1 % frais :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{98}{36} = 3,06 = P$$

Le titre alexique du sérum de ce sang était H³ au tube IX.

5° Sang citraté 1 % chauffé demi-heure à 56° :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{102}{113} = 0,90 = P \text{ (erreur probable)}$$

Sang citraté 1 % frais :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{106}{82} = 1,29 = P$$

Le titre alexique du sérum de ce sang était H³ au tube X.

6° Sang citraté 1 % chauffé demi-heure à 56° :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{110}{101} = 1,08 = P$$

Sang citraté 1 % frais :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{108}{103} = 1,04 = P$$

Le titre alexique du sérum de ce sang était H² (seulement) au tube XV.

Il s'agissait du malade présentant une pyodermite généralisée à la période finale d'une leucémie myéloïde.

Donc, d'une façon générale, l'alexine paraît intervenir efficacement dans la bactéricidie du colibacille.

Le pouvoir alexique en pathologie humaine

I — POUVOIR ALEXIQUE DANS LES MALADIES INFECTIEUSES.

A — *Pouvoir alexique au cours des oreillons.*

Lors de notre stage d'internat, en 1936, au service des contagieux de la Conception (Salle Freyssinge), nous avons eu l'occasion d'observer 21 cas d'oreillons. Nous avons titré le pouvoir alexique du sérum de ces malades. A cette époque, nous n'avions pas encore mis au point la méthode de dosage personnelle que nous avons décrite. Le titre alexique était établi par rapport à 1 ou 2 sérums témoins T provenant de sujets apparemment normaux. Le système hémolytique employé consistait en une suspension de globules rouges de mouton à 5 p. cent en eau physiologique, globules sensibilisés avec 2 unités hémolytiques (titrées au moyen d'alexine de cobaye).

- N° 1 Nat... Dom..., 29 ans. Chauffeur à bord. Le 2 février 1936.
Période fébrile.
Sérum témoin T: H^3 à 0 cc 60 dilué au 1/2 en eau physiologique.
Sérum malade M: H^3 à 0 cc 50 » » »
- N° 2 Mons... Alph..., 13 ans. Le 10 février 1936.
Période fébrile.
T: H^3 à 0 cc 55 dilué au 1/2 en eau physiologique.
M: H^3 à 0 cc 65 » » »
- N° 3 Mons... Jules (frère d'Alph...), Le 17 février 1936.
Période fébrile.
T: H^3 à 0 cc 40 dilué au 1/2 en eau physiologique.
M: H^3 à 0 cc 30 » » »
- N° 4 Mart... And., 12 ans. Ecole Courbet.
Température, 37° 8.
T: H^3 à 0 cc 45 dilué au 1/2 en eau physiologique.
M: H^3 à 0 cc 40 » » »
- N° 5 Schul... André, 9 ans. Ecole Courbet. Le 13 mai 1936.
Apyréptique.
T: H^3 à 0 cc 35 dilué au 1/2 en eau physiologique.
M: H^3 à 0 cc 25 » » »
- N° 6 Thel... Bertin, 8 ans. Ecole Courbet. Le 13 mai 1936.
Température, 38°.
T: H^3 à 0 cc 35 dilué au 1/2 en eau physiologique.
M: H^3 à 0 cc 40 » » »

N° 7 Trocq... Paul, 13 ans. Ecole Courbet. Le 13 mai 1936.

Apyreptique.

T : H³ à 0 cc 35 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 30 » » »

N° 8 Casa... Gab., 7 ans. Ecole Courbet. Le 18 mai 1936.

Température, 38°.

T : H³ à 0 cc 45 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 30 » » »

N° 9 Rep... Alph., 9 ans. Ecole Courbet. Le 18 mai 1936.

Température, 38°.

T : H³ à 0 cc 45 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 50 » » »

N° 10 Mass. Maur., 12 ans. Ecole Courbet. Le 18 mai 1936.

Température, 38°.

T : H³ à 0 cc 45 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 40 » » »

N° 11 Walf... D., 11 ans. Ecole Courbet. Le 18 mai 1936.

Température, 39°.

T : H³ à 0 cc 45 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 30 » » »

N° 12 Vermo..., 14 ans. Ecole Courbet. Le 18 mai 1936.

Température, 39°.

T : H³ à 0 cc 45 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 25 » » »

N° 13 Ad... Hélène, 8 ans. Le 20 mai 1936.

Apyreptique.

T : H³ à 0 cc 40 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 45 » » »

N° 14 Arn... Maur., 16 ans. Ecole Courbet. Le 20 mai 1936.

Température, 37° 8.

T : H³ à 0 cc 40 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 35 » » »

N° 15 Ad... Thérèse. (Sœur d'Hélène). Le 2 juin 1936.

Température, 39°.

T : H³ à 0 cc 50 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 40 » » »

N° 16 Kerm... Jean, 14 ans. Ecole Courbet. Le 2 juin 1936.

Température, 39°.

T : H³ à 0 cc 50 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 55 » » »

N° 17 Casa... Félix, 13 ans. (Frère de Gabriel). Ecole Courbet. Le 5 juin 1936.

Température, 38°.

T : H³ à 0 cc 40 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 45 » » »

N° 18 Bar... Jean. Ecole Courbet. Le 5 juin 1936.

Température, 38° 6.

T : H³ à 0 cc 40 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 35 » » »

N° 19 Herm... François, 14 ans. Ecole Courbet. Le 8 juin 1936.

Température, 39°.

T : H³ à 0 cc 35 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 30 » » »

N° 20 Spyr... Ed., 15 ans. Ecole Courbet. Le 8 juin 1936.

Apyreptique.

T : H³ à 0 cc 35 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 40

N° 21 Laur... Jean, 9 ans. Le 26 juin 1936.

Température, 39°.

T : H³ à 0 cc 45 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 55 » » »

En conclusion, les oreillons n'entraînent aucune variation caractéristique du pouvoir complémentaire.

B — Pouvoir alexique au cours de la scarlatine.

Cette étude a été effectuée en 1936 à la salle Freyssinge. Nous avons employé le procédé de dosage décrit à propos des oreillons.

1° Est... Ros., 25 ans.

Prélèvement le 15 février 1936, au 7^{me} jour de l'évolution.

Température, 37° 6.

T : H³ à 0 cc 45 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 70 » » »

2° Hav... René, 40 ans.

Prélèvement le 4 mars 1936, au 5^{me} jour de l'évolution.

Température, 38°.

T : H³ à 0 cc 40 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 60 » » »

Nouveau prélèvement le 10 mars 1936.

Température, 37°. Albuminurie, 0 gr. 50 par litre. Azotémie, 0 gr. 45.

T : H³ à 0 cc 45 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 75 » » »

3° Arm... Gisèle, 15 ans.

Prélèvement le 28 mars 1936, au 8^{me} jour de l'évolution.

Température, 37°.

T : H³ à 0 cc 35 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 35 » » »

4° Rau... Jean, 13 ans.

Prélèvement le 12 avril 1936, au 4^{me} jour de l'évolution.

Température, 38°.

T : H³ à 0 cc 40 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 65 » » »

5° Gimen... Léon, 12 ans.

Prélèvement le 30 avril 1936, au 6^{me} jour de l'évolution.

Température, 37° 6.

T : H³ à 0 cc 40 dilué au 1/2 en eau physiologique.

M : H³ à 0 cc 70 » » »

En conclusion, 4 fois sur 5, diminution très nette du pouvoir alexique au cours de la scarlatine.

C — *Pouvoir complémentaire au cours de la fièvre typhoïde*

Les dosages d'alexine ont été effectués par la méthode personnelle que nous avons décrite.

1° Le 22 avril 1938. Examen n° 225.240 (Laboratoire : 16, rue Dragon).

Fièvre typhoïde au 8^{me} jour, 39° 5.

Séro positif au 1/1000.

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube VIII.

2° Le 23 avril 1938. Examen n° 225.260.

Homme 40 ans, 7^{me} jour, 40°.

Hémoculture positive à l'Eberth.

Séro de Widal positif au 1/30.

T : H³ au tube VIII.

M : H³ au tube VI.

3° Le 15 mai 1939. Examen n° 245.495.

M^{lle} Ray, 23 ans.

Absence de renseignements cliniques.

Séro de Widal positif au 1/100.

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube VII.

4° Le 16 mai 1939. Examen n° 245.520.

Homme, 18 ans.

Hémoculture positive à l'Eberth.

Séro agglutination au 1/10.

T : H³ au tube VIII.

M : H³ au tube VI.

5° Le 28 mai 1939. Arl... Andrée. Femme, 24 ans.

10^{me} jour de l'évolution.

Séro de Widal positif au 1/50.

T : H³ au tube VIII.

M : H³ au tube VI.

Le 5 juin 1939 : perforation intestinale.

T : H³ au tube VIII.

M : H³ au tube VII.

Décès le lendemain.

6° Le 8 janvier 1940. Julie Vut... Femme, 40 ans.

Hôpital Michel-Lévy, Service Officiers.

Hémoculture positive à l'Eberth. Métrorragies.

T : H³ au tube VIII.

M : H³ au tube VI.

7° Le 12 mai 1941. Duchal... Elie.

Séro de Widal positif au 1/50.

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube VIII.

8° Le 2 avril 1941. Goderia... Femme, 31 ans.

Séro positif au 1/30.

Hémoculture positive.

T : H³ au tube VIII.

M : H³ au tube VI.

Pas de variations appréciables au cours de la fièvre typhoïde.

D — *Pouvoir complémentaire au cours de la mélitococcie.*

1° Le 22 avril 1938. Examen n° 225.213. M. Rey, 38 ans.

Evolution après 1 mois et 1/2. Période fébrile.

Séro diagnostic de Wright positif au 1/400.

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube XII.

2° Le 10 mai 1939. Argenn... Victoria, 42 ans. Salle Tricon Olmer, Hôtel-Dieu.

Mélitococcie évoluant depuis 2 mois, prélèvement au moment d'une période subfébrile 37° 7 succédant à une période apyreptique.

Séro de Wright positif au 1/800.

T : H³ au tube IX.

M : H³ au tube XV.

3° Le 14 mai 1939. Examen n° 245.492. Gen..., femme, 55 ans.

Mélitococcie évoluant depuis 21 jours, reprise des accès.

Séro-diagnostic de Wright positif au 1/400.

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube XIII.

Le 30 mai 1939 : période apyreptique :

T : H³ au tube VI.

M : H³ au tube XII.

- 4° Le 16 mai 1941, Rocc..., 22 ans. Salle Peyssonel exotique, Hôtel-Dieu.
Mélitococcie évoluant depuis un mois. 38°5 le soir.
Intradermo-réaction à la Mélitine négative.
Séro-diagnostic de Wright positif au 1/400.
Hémoculture positive au *Melitensis* après 10 jours d'étuve.
Prélèvement pendant la période fébrile:
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube XIV.

Le 29 mai 1941: après traitement au Quinby, période apyretique:
T : H³ au tube VII.
M : H³ au tube XV.

Le 15 octobre 1941: après trois mois de convalescence:
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube XI.

Le pouvoir alexique paraît donc diminuer au cours de la mélitococcie.

E — *Pouvoir complémentaire*
au cours de septicémies diverses, d'infections pyogènes.

- 1° Septico-pyohémie staphylococcique. Destr... Jules.

Hémoculture positive au staphylocoque doré le 23 avril 1940.

Hémoculture positive au staphylocoque doré le 30 avril 1940.

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube IX.

Le malade meurt 15 jours après.

- 2° Septico-pyohémie staphylococcique. Erb... Et., 28 ans.

Hémoculture positive au staphylocoque doré.

T : H³ au tube VIII.

M : H³ au tube VII.

Le malade guérit après immunotransfusion et sulfamidothérapie.

- 3° Septicémie à pneumobacille. Juin 1938. Victor... André.

Hémoculture positive au pneumobacille.

T : H³ au tube VIII.

M : H³ au tube XIII.

- 4° Abscès chauds sur traînées de lymphangite de la jambe. Juillet 1941.

Abdel... Eli., 25 ans, navigateur.

Service de dermatologie, annexe.

T : H³ au tube VIII.

M : H³ au tube VI.

- 5° Adénophlegmon de la région inguinale gauche.

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube IV.

6° Maladie d'Osler. Math... Léon, 25 ans.

Endocardite survenue sur rétrécissement mitral.

Hémoculture positive: *Streptococcus viridans*.

1^{er} dosage au 15^{me} jour de l'évolution:

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube X.

2^{me} dosage au 30^{me} jour de l'évolution:

T : H³ au tube VI.

M : H³ au tube XII.

3^{me} dosage au 2^{me} mois de l'évolution:

T : H³ au tube VI.

M : H³ au tube XII.

Mort 15 jours après.

II — Pouvoir alexique dans les affections hépatiques.

1° Examen n° 225.260 Gen... André.

Ictère catarrhal depuis cinq jours.

Azotémie: 0 gr. 30.

Urines { Albumine: 0
 { Sucre: 0

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube XI.

2° Bert..., 15^{me} train, infirmerie de garnison. 15 mars 1939.

Ictère catarrhal.

Azotémie: 0 gr. 35.

Urines { Albumine: 0
 { Sucre: 0

T : H³ au tube VI.

M : H³ au tube X.

3° Hort... Ju. (infirmier 15^{me} S. I. M.), 25 avril 1939.

Ictère catarrhal.

Azotémie: 0 gr. 42.

Urines { Albumine: 0
 { Sucre: 0

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube VII.

Donc, sur 3 ictères catarrhaux, 2 diminutions appréciables.

4° Arn... Justin. Salle Aillaud n° 8 (Hôtel-Dieu).

Cirrhose de Laënnec.

Ascite et temps de saignement prolongé: 7 minutes.

T : H³ au tube VI.

M : H³ au tube XII.

5° Vern... Ch. Examen n° 225.214.

Cirrhose de Laënnec.

Azotémie: 0 gr. 45.

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube XII.

- 6°. Arn... Louis. Service du docteur Monges, hôpital Saint-Joseph.
Cirrhose de Laënnec.
Azotémie: 0 gr. 38.
T : H³ au tube V.
M : H³ au tube XIII.
- 7°. Ner... Augustine, 56 ans. Salle Sainte-Anne, hôpital Saint-Joseph.
Cirrhose de Laënnec.
Azotémie: 0 gr. 50.
T : H³ au tube VII.
M : H³ au tube XI.
- 8°. Marq... Louise, 50 ans. Salle Sainte-Marthe, hôpital Saint-Joseph.
Cirrhose de Laënnec.
Azotémie: 0 gr. 38.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube IX.
- 9°. Rigi... Léon, salle Peyssonel exotique n° 5. Juin 1941.
Cirrhose de Hannot et Gilbert.
Temps de saignement: 5 minutes.
Temps de coagulation: 6 minutes (en petits tubes).
Azotémie: 0 gr. 49.
T : H³ au tube VII.
M : H³ au tube XIV.
- 10°. Santar... Consultation externe du professeur Jean Piéri, Hôtel-Dieu.
Syndrome de Banti à la 2^{me} période.
Héméralopie.
Vitamine A dans le sang : 11 γ (normale : 30 γ).
T : H³ au tube VI.
M : H³ au tube XIII.
- 11°. Ans... Hat. Isolement Matignon (consignés), Hôtel-Dieu.
Cholécystite subaiguë (37° 6) avec subictère.
T : H³ au tube VII.
M : H³ au tube VIII.
- 12°. Terg... Service du docteur de Vernejoul, hôpital Saint-Joseph.
Cholécystite lithiasique.
Azotémie: 0 gr. 45.
Glycémie: 0 gr. 88.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube VII.

Donc, il n'y a abaissement du taux alexique que lorsque le parenchyme hépatique est touché sur une vaste surface.

III — AFFECTIONS CARDIAQUES.

- 1°. Mals... Robert, 20 ans (service de la Place).
Rétrécissement mitral bien compensé.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube VII.

- 2° Bord... Geneviève, 22 ans (service de la place).
Rétrécissement mitral, petite hémoptysie.
T : H³ au tube VII
M : H³ au tube IX.
- 3° Sera... Jules, 30 ans (Conseil de réforme).
Rétrécissement mitral bien compensé.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube VIII.
- 4° Soulagr... Etienne, 15 ans.
Rétrécissement mitral bien compensé.
T : H³ au tube V.
M : H³ au tube VIII.
- 5° Bienven... André.
Rétrécissement mitral bien compensé,
T : H³ au tube VII.
M : H³ au tube VI.
- 6° Ey... P. (Consultation du professeur Piéri, Hôtel-Dieu).
Rétrécissement mitral bien compensé.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube VI.
- 7° Arn... Gustave, 30 ans, salle Aillaud.
Insuffisance aortique (Corrigan).
19 — 8
Congestion des deux bases. T. A. : — (Pachon)
T : H³ au tube VII.
M : H³ au tube XII.
- 8° X..., 40 ans. Consultation externe du professeur Piéri, Hôtel-Dieu,
mai 1941.
Insuffisance aortique (Hodgson) bien compensée.
20 — 10
T. A. : — (Pachon)
3
T : H³ au tube IX.
M : H³ au tube VII.
- 9° V... M., salle Sainte-Anne, hôpital Saint-Joseph.
Insuffisance aortique (Corrigan) bien compensée.
Albumine : 0.
Sucre : 0.
Azotémie : 0 gr. 35.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube IX.

- 10° B... Fern., 21 an. Peyssonel exotique (Hôtel-Dieu), n° 11.
Insuffisance aortique (Corrigan) bien compensée.
Séquelles d'amibiase (rapatrié de Tunisie).
16 — 7
T. A. : ——— (Pachon)
5
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube IX.
- 11° E... M... (avril 1938).
Myocardite.
Œdème rosé des membres inférieurs.
Azotémie : 0 gr. 42.
T : H³ au tube VI.
M : H³ au tube XIII.
- 12° An... V. Salle Peyssonel exotique. N° 8. Mai 1944.
Myocardite ancienne.
Asystolie. Foie cardiaque.
16 — 13
T. A. : ———
2
T : H³ au tube VII.
M : H⁰ au tube XV.
Mort 3 jours après.
- 13° S... M. Annexe Matignon. (Prisonniers politiques). Avril 1941.
Myocardite ancienne. Crises d'Angor.
Œdème des membres inférieurs
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube XIII.
- 14° B... R. Examen n° 225.240, 62 ans.
Hypertension. Œdème dur.
Azotémie : 0 gr. 45.
T : H³ au tube VI.
M : H³ au tube XIV.
- IV — NÉPHRITES.
- 1° Examen n° 225.184. Homme, 51 ans. 21 avril 1938.
24 — 15
Hypertension : ———
2
Œdème malléolaire.
Azotémie : 0 gr. 69.
Albuminurie : 5 gr. 40 par litre, 8 gr. 10 en 24 heures.
Prélèvement 11 h. 30 (petit déjeuner léger).
T : H³ au tube VI.
M : H³ au tube XII.
- 2° Examen n° 225.220. Homme, 48 ans. 22 avril 1938.
Hypertension. Œdème des malléoles (à caractère cardiaque).
Azotémie : 0 gr. 55.
T : H³ au tube VII.
M : H³ au tube XIII.

- 3° Examen n° 225.211. M^{lle} Gards..., 66 ans. 22 avril 1938.
Cardio-rénale : emphysème, œdèmes, hypertension.
Azotémie : 0 gr. 70.
Albumine : 4 gr. 10.
T : H³ au tube IX.
M : H³ au tube XV.
- 4° Examen n° 225.264. Femme, 35 ans. 24 avril 1938.
Albuminurie : 2 gr. 80 par litre, 3 gr. 22 en 24 heures.
Azotémie : 0 gr. 56.
Légère anémie (3.700.000).
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube XIII.
- 5° Examen n° 225.275. Femme, 57 ans.
Excellent état général.
Azotémie : 0 gr. 59.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube IX.
- 6° M. Flech..., 16 mai 1939.
Urémie aiguë.
Azotémie : 5 gr. 40.
T : H³ au tube IX.
M : H³ au tube XIII.
- 7° Examen n° 225.345. M. Ang...
Hypertension.
Azotémie : 0 gr. 45.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube IX.
- 8° Examen n° 222.216. Femme, 66 ans. 22 avril 1938.
Œdèmes, prurit.
Glycémie : 0 gr. 81.
Azotémie : 0 gr. 45.
Cholestérinémie : 1 gr. 82.
Uricémie : 0 gr. 075.
T : H³ au tube IX.
M : H³ au tube XV.
- 9° Nguy Van Ng..., 26 ans. Boy à bord.
Hospitalisé à Peyssonel exotique, n° 13.
Néphrose lipoïdique avec élément néphritique important.
Œdèmes mous, pas d'hypertension.
Albuminurie : 6 gr. — 8 gr. — 6 gr.
Présence de corpuscules biréfringents.
Rapports sérine-globuline : 1,15.
Cholestérinémie : 2 gr. 28.
Azotémie : 0 gr. 85 — 0 gr. 90 — 0 gr. 94 — 1 gr. 15.
Premier dosage le 5 mai 1941 :
T : H³ au tube VI.
M : H³ au tube XIII.
Deuxième dosage le 19 mai 1941 :
T : H³ au tube VIII.
M : H^{2,5} au tube XV.

10° Examen n° 225. 245. M^{me} M... L., 48 ans.

21 — 15

Hypertension : $\frac{\quad}{2}$

B. W. négatif.

Azotémie : 0 gr. 45.

T : H³ au tube VI.

M : H³ au tube XI.

11° Reyn... A. Consultation Hôpital Saint-Joseph (Docteur Monges).

Œdème blanc mou.

Azotémie : 0 gr. 38.

Albumine : 0.

T : H³ au tube VI.

M : H³ au tube XIII.

12° Ro... Clinique Bouchard. Opéré du Docteur de Vernejoul.

Azotémie : 2 gr. 75 ; oligurie ; absence d'albumine.

T : H³ au tube VIII.

M : H³ au tube XIV.

13° Examen n° 266. 373. M. Mousg...

Azotémie : 0 gr. 55.

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube VI.

14° Examen n° 266. 269. M. Loub..., 8 juillet 1941.

Azotémie : 0 gr. 60.

T : H³ au tube VIII.

M : H³ au tube XII.

15° Examen n° 266. 208. M. Kohl..., 7 juillet 1941.

Azotémie : 0 gr. 68.

Albuminurie : 27 gr. 90.

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube XV.

16° Examen n° 266. 209. M^{lle} Fera... Hôpital Saint-Joseph, 7 juillet 1941.

Azotémie : 0 gr. 80.

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube XI.

17° Examen n° 266. 273. M^{me} Ré..., 8 juillet 1941.

Azotémie : 1 gr. 40.

T : H³ au tube VIII.

M : H³ au tube IX.

18° Examen n° 266. 297. M^{me} Passer..., 9 juillet 1941.

Azotémie : 1 gr. 35.

T : H³ au tube VI.

M : H³ au tube XIV.

19° Examen n° 266.301. M. Tarach..., 9 juillet 1941.

Azotémie : 1 gr. 20.

T : H³ au tube VI.

M : H³ au tube VII.

20° Examen n° 266.325. Marin... Gast., Hôpital Saint-Joseph.

Azotémie : 0 gr. 87.

T : H³ au tube VII.

M : H^{2,5} au tube XV.

21° Examen n° 266.344. Oliv..., 10 juillet 1941.

Albuminurie : 2 gr. 64 par litre.

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube XII.

V — MALADIES DU SANG.

A) Anémies.

1° Examen n° 225.178. M^{me} Papa..., 55 ans, 21 avril 1938.

Anémie améliorée.

NUMÉRATION :

G. R. : 3.660.000

G. B. : 10.000

Hémoglobine : 79,5 %

Val. glob. : 1,08

FORMULE :

Polyneutro	58 %
Polyésono	13
Polybaso	0
Grands mono	1
Moyens mono	9
Lympho	18
Myélocytes	1

Donc, anémie plastique avec éosinophilie.

T : H³ au tube VIII.

M : H³ au tube VI.

2° Examen n° 225.273. Homme, 60 ans, 23 avril 1938.

Anémie très grave. Décédé 1 mois après.

NUMÉRATION :

G. R. : 3.040.000

G. B. : 3.000

Hémoglobine : 40,8 %

Val. glob. : 0,67.

FORMULE :

Polyneutro	53
Polyéosino	1
Polybaso	0
Grands mono	6
Moyens mono	17
Lympho	23

Donc, anémie aplastique.

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube VI.

3° Examen n° 227.965. M^{me} Gust..., 58 ans, 8 décembre 1938.

Anémie intense consécutive à une hémorragie chirurgicale très importante.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 2.664.000	Polyneutro 70
G. B. : 3.000	Polyéosino 0
Plaquettes : 450.000	Polybaso 0
Hémoglobine : 42 %	Grands mono 3
Val. glob. : 0,79	Moyens mono 4
	Lymphocytes 22
	F. jeunes 1
	(métamyélocyte)

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube II.

4° Examen n° 225.992. M. Bl..., 53 ans. 9 décembre 1938.

Anémie intense.

G. R. : 1.880.000

Formule égarée

G. B. : 3.200

T : H³ au tube VI.

M : H³ au tube III.

5° Examen n° 225.995. M. Mas..., 65 ans. 9 décembre 1938.

Anémie. Fièvre. Hyperleucocytose. Décès 10 jours après.

G. R. : 2.600.000

Formule égarée

G. B. : 11.000.

T : H³ au tube VI.

M : H³ au tube IV.

6° Art.. Ludov., 28 ans.

Anémie. Fièvre.

G. R. : 2.100.000

Formule égarée

G. R. : 6.000

Hémoglobine : 60 %

Val. glob. : 1,42.

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube VIII.

7° E... N., 65 ans. Salle Aillaud, n° 8. 12 mai 1939.

Parkinsonien. Purpura. Anémie.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 2.800.000	Polyneutro 60
G. B. : 7.500	Polyéosino 0
Temps de saignement : 4 min. ½	Polybaso 0
Temps de coagulation : 8 min.	Grands mono 3
	Moyens mono 5
	Lympho 32
T : H ³ au tube IX.	
M : H ³ au tube III.	

8° Per... Germaine, 16 mai 1939.

Anémie considérable.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 660.000	Polyneutro 51
G. B. : 1.500	Polyéosino 1
Hémoglobine : 19,9 %	Polybaso 0
Va. glob. : 1,5	Grand mono 1
Anisocytose	Moyens mono 25
Poikilocytose	Lympho 22
Pas d'hématies nucléées	
Azotémie : 0 gr. 32	
Glycémie : 1 gr. 13	
T : H ³ au tube IX.	
M : H ⁰ au tube XV.	

Il a fallu ajouter 6 tubes, soit tube XXI, pour avoir H².

Donc, pouvoir alexique très diminué.

Mort 10 jours après.

9° Rémuz..., 16 mai 1939.

NUMÉRATION :	FORMULE :
Anémie	Polyneutro 91
G. R. : 2.060.000	Polyéosino 0
G. B. : 12.000	Polybaso 0
Hémoglobine : 41 %	Grand mono 1
Val. glob. : 1	Moyens mono 3
	Lympho 5
T : H ³ au tube IX.	
M : H ³ au tube VI.	

10° Hart. Léon, 25 mai 1939.

Anémie. Leucopénie.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 2.600.000	Polyneutro 55
G. B. : 5.000	Polyéosino 1
	Polybaso 0
	Grand mono 0
	Moyens mono 14
	Lympho 30
T : H ³ au tube VI.	
M : H ³ au tube IV.	

11° Moh... B.-A., indigène algérien, 50 ans.

Passé le 10 mai 1941 à Peyssonel exotique, n° 3, provenant du service du professeur Moiroud où il avait subi une laparotomie exploratrice avec biopsie gastrique à la suite d'une image radiographique pseudo-néoplasique.

Biopsie gastrique, aplasie.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 2.250.000	Polyneutro 55
G. B. : 3.000	Polyéosino 2
Val. glob. : 1,8	Polybaso 0
	Monocytes 14
	Lymphocytes 28
	F. jeunes 1
	(Myélocyte neutro)

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube V.

Après un mois de traitement : gastrhéma, hémopylore, extrait hépatique.

G. R. : 4.020.000

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube VIII.

12° Examen n° 265.623. M. Chap..., 25 juin 1941.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 2.920.000	Polyneutro 71
G. B. : 5.600	Polyéosino 1
Hémoglobine : 51,3 %	Polybaso 0
Val. glob. : 0,69	Grands mono 5
	Moyens mono 6
	Lympho 17

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube V.

13° Examen n° 265.708. M. Chéri..., 27 juin 1941.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 2.820.000	Polyneutro 61
G. B. : 3.000	Polyéosino 3
Hémoglobine : 66 %	Polybaso 0
Val. glob. : 1,19	Grands mono 9
	Moyens mono 17
	Lympho 10
	Formes jeunes 0

T : H³ au tube VIII.

M : H³ au tube VIII.

14° Examen n° 265.854. F. Flouv..., 28 juin 1941.

Anémie. Hyperthermie.
Séro T. A. B. M. négatifs.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 2.440.000	Polyneutro 50
G. B. : 3.000	Polyéosino 0
Hémoglobine : 62,4 %	Polybaso 0
Val. glob. : 1,27	Grand mono 0
	Moyens mono 29
	Lympho 21
T : H ³ au tube VII.	Formes jeunes 0
M : H ³ au tube IV.	

15° Examen n° 265.945. M. Bouil..., 2 juillet 1941.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 3.620.000	Polyneutro 44
G. B. : 3.500	Polyéosino 3
Hémoglobine : 88,6 %	Polybaso 0
Val. glob. : 1,21	Grands mono 9
	Moyens mono 14
	Lympho 30
T : H ³ au tube VIII.	Formes jeunes 0
M : H ³ au tube VI.	

16° Examen n° 265.151. M. Catt., 2 juillet 1941.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 2.950.000	Polyneutro 32
G. B. : 3.500	Polyéosino 0
Hémoglobine : 59 %	Polybaso 0
Val. glob. : 1	Grands mono 8
	Moyens mono 25
	Lympho 35
T : H ³ au tube VIII.	Formes jeunes 0
M : H ³ au tube IV.	

17° Examen n° 266.066. M^{me} Cossa..., 4 juillet 1941.

Anémie.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 2.940.000	Polyneutro 62
G. B. : 3.000	Polyéosino 1
Hémoglobine : 55 %	Polybaso 0
Val. glob. : 0,92	Grands mono 4
Indice de sédimentation : 18	Moyens mono 7
(limite supérieure de la	Lympho 26
normale : 10)	Formes jeunes 0

T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube XIII.

18° Examen n° 266.140. M^{me} Mattia..., 6 juillet 1941.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 3.360.000	Polyneutro 86
G. B. : 15.000	Polyéosino 0
Hémoglobine : 55,2 %	Polybaso 0
Val. glob. : 0,82	Grand mono 0
	Moyens mono 3
	Lympho 11
T : H ³ au tube IX.	Formes jeunes 0
M : H ³ au tube IV.	

19° Examen n° 266.249. M^{lle} Hobac..., 8 juillet 1941.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 1.840.000	Polyneutro 68
G. B. : 3.000	Polyéosino 0
Hémoglobine : 41 %	Polybaso 0
Val. glob. : 1,11	Grands mono 2
	Moyens mono 17
	Lympho 13
T : H ³ au tube VII.	Formes jeunes 0
M : H ³ au tube V.	

20° Examen n° 266.307 M^{me} Orgn...

Anémie très grave. Décès quelques jours après.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 1.380.000	Polyneutro 59
G. B. : 7.000	Polyéosino 0
Hémoglobine : 28 %	Polybaso 0
Val. glob. : 1,01	Grand mono 1
Poikilocytose marquée	Moyens mono 6
	Lympho 34
T : H ³ au tube VII.	Formes jeunes 0
M : H ³ au tube XIII.	

21° Examen n° 266.371. M^{me} Sour..., 10 juillet 1941.

Hémorragie chirurgicale.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 2.600.000	Polyneutro 70
G. B. : 3.500	Polyéosino 1
Hémoglobine : 52 %	Polybaso 0
Val. glob. : 1,03	Grands mono 7
	Moyens mono 6
	Lympho 15
	F. jeunes 1
T : H ³ au tube VIII.	(Myélocyte neutro)
M : H ³ au tube II.	

B) Polyglobulies

1° Examen n° 225.288. Est..., 8 décembre 1938.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 5.600.000	Polyneutro 65
G. B. : 8.500	Polyéosino 2
Hémoglobine : 101 %	Polybaso 0
Val. glob. : 0,90	Grands mono 4
Déjà traité par radiothérapie.	Moyens mono 6
	Lympho 20
	F. jeunes 3
	(Métamyélocytes neutro)
T : H ³ au tube VII.	
M : H ³ au tube XIV.	

2° An... Elie, 50 ans. Tricon Olmer, n° 3. 20 avril 1939.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 7.600.000	Polyneutro 85
G. B. : 10.000	Polyéosino 0
Hémoglobine : 114 %	Polybaso 0
Val. glob. : 0,73	Grand mono 0
	Moyen mono 0
	Lympho 12
	Myélocytes 3
T : H ³ au tube VI.	
M : H ³ au tube X.	

3° Icard..., femme, 55 ans, 12 décembre 1938.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 7.250.000	Polyneutro 86
G. B. : 10.500	Polyéosino 2
	Polybaso 0
	Grands mono 2
	Moyens mono 3
	Lympho 5
	F. jeunes 2
	(Métamyélocytes neutro)
T : H ³ au tube VII.	
M : H ³ au tube XII.	

Donc, sur 3 cas, 3 diminutions appréciables.

C) Leucémies

1° Ney Aug., 27 ans, 10 décembre 1938.

Leucémie myéloïde au début, non traitée.

NUMÉRATION :

G. R. : 3.200.000
G. B. : 220.000

FORMULE :

Polyneutro	15
Polyéosino	0
Polybaso	0
Grand mono	0
Moyens mono	3
Lympho	20
Myélocytes	56
Myéloblastes	6

Quelques rares hématies nucléées

T : H³ au tube IX.

M : H³ au tube III.

2° Herv... Lucien, 32 ans, 8 janvier 1939.

Leucémie myéloïde au début, non traitée.

NUMÉRATION :

G. R. : 2.800.000
G. B. : 180.000
Hématies nucléées : 0

FORMULE :

Polyneutro	20
Polyéosino	0
Polybaso	0
Grand mono	1
Moyen mono	0
Lympho	11
Myélocytes	63
Myéloblastes	5

T : H³ au tube IX.

M : H³ au tube IV.

3° Examen n° 236.093. Nat..., homme, 50 ans, 8 décembre 1939.

Leucémie myéloïde avant traitement radiothérapique.

NUMÉRATION :

G. R. : 3.010.000
G. B. : 127.000
Hémoglobine : 54,6 %
Val. glob. : 0,90

FORMULE :

Polyneutro	11
Polyéosino	0
Polybaso	0
Grand mono	0
Moyen mono	1
Lympho	41
Myélocytes neutro	42
Promyélocytes neutro	5

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube II.

- 4° A... D., femme, 51 ans (communiquée par M L. CHEVREL).
Leucémie myéloïde au début de son évolution.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 4.030.000	Polyneutro 40,3
G. B. : 392.000	Polyéosino 2,6
	Polybaso 1,8
	Grand mono 0
	Moyens mono 7
	Lympho 0,8
	Monocytes 0,8
	Myélocytes neutro 40,5
	Myélocytes éosino 4,4
	Myéloblastes 1,8

T : H³ avec 0 cc 50 d'un sérum normal dilué au 1/5.

M : H³ avec 0 cc 12 du sérum malade dilué au 1/5.

Soit, alexine 4 fois plus active dans le sérum de leucémique.

- 5° R..., homme, 35 ans (communiquée par M. L. CHEVREL).

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 2.900.000	Polyneutro 42,4
G. B. : 90.000	Polyéosino 0,7
	Polybaso 2,8
	Grand mono 0
	Moyens mono 3,8
	Lympho 0,7
	Monocytes 1,5
	Myélocytes neutro 37,8
	Myélocytes éosino 1,5
	Promyélocytes 6,9
	Cellules souches 2,1

T : H³ avec 0 cc 60 d'un sérum normal dilué au 1/5.

M : H³ avec 0 cc 20 du sérum malade dilué au 1/8.

- 6° Sauteyr... (Malade suivi grâce à l'obligeance du docteur TOINON).

Premier examen le 8 février 1939:

Syndrome leucémique.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 3.010.000	Polyneutro 11
G. B. : 127.000	Polyéosino 0
Hémoglobine : 54,6	Polybaso 0
Val. glob. : 0,90	Grand mono 0
	Moyen mono 1
	Lymphocytes 41
	Myélocytes neutro 42
	Myélocyte éosino 0
	Promyélocytes neutro 5

T : H³ au tube VII.

M : H³ au tube III.

Deuxième examen le 1^{er} mai 1939 :

Après radiothérapie : anémie, mauvais état général.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 3.340.000	Polyneutro 37
G. B. : 15.000	Polyéosino 2
Hémoglobine : 55,2	Polybaso 0
Val. glob. : 0,82	Grand mono 1
	Moyens mono 29
	Lympho 31
	F. jeunes 0

T : H³ au tube VI.

M : H⁰ au tube XV.

Alexine très diminuée.

Troisième examen le 11 mai 1939 :

Très mauvais état général, pyodermite généralisée avec petits abcès sous-cutanés, 37°.

NUMÉRATION :	FORMULE :
G. R. : 2.700.000	Polyneutro 27
G. B. : 8.000	Polyéosino 0
	Polybaso 0
	Grand mono 0
	Moyens mono 14
	Lympho 59
	F. jeunes 0

Pouvoir bactéricide vis-à-vis du staphylocoque :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{235}{215} = 1,093 = P$$

Pouvoir bactéricide vis-à-vis du colibacille :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{108}{103} = 1,04 = P$$

Pouvoir bactéricide très faible.

T : H³ au tube VII.

M : H⁰ au tube XIX.

Il faut une dose de 0 cc 50 de sérum pur non dilué pour obtenir H², donc alexine à peu près inexistante.

Quatrième examen le 4 août 1939 :

T : H³ au tube VI.

M : H⁰ à 0 cc 40 pur.

Alexine nulle.

Mort en février 1940.

DIVERS

- 1° Examen n° 228. 239, femme, 70 ans.
Rhumatisme. 40°.
T : H³ au tube IX.
M : H⁰ au tube XV.
- 2° Examen n° 246. 228. M^{me} Ar... des A...
Rhumatisme.
Indice de sédimentation globulaire: 12 (normale $\leq$ 10).
T : H³ au tube VII.
M : H³ au tube XII.
- 3° Le Ba... Peyssonel exotique, n° 7, 6 mai 1941.
Rhumatisme articulaire aigu.
Douleurs articulaires.
Myocardite.
T : H³ au tube VI.
M : H³ au tube XIII.
- 4° A... D., prisonnier évadé. Consultation professeur Piéri, mars 1941.
Scorbut typique.
Légère anémie.
Temps de saignement: 5 minutes.
T : H³ au tube VII.
M : H³ au tube V.
Avri 1941: guérison des lésions évolutives.
Hématologie normale.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube V.
- 5° Examen n° 225. 272. Homme, 32 ans.
Surmenage, 52 heures de veille.
B. W. négatif.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube XV.
Forte diminution.
- 6° Puj... Marius, 15^{me} train: infirmerie de garnison.
Maladie sérieuse (après injection de sérum antitétanique).
Arthralgies. Fièvre. Eruption urticarienne.
T : H³ au tube VI.
M : H³ au tube XIV.
- 7° E... Marguerite. Salle Sueton, n°5, 6 novembre 1940.
Eczéma chronique des deux jambes et des deux bras.
T : H³ au tube VI.
M : H³ au tube V.

- 8° Ri... Victor, 35 ans, salle Rocca, n°6, 20 octobre 1941.
Eczéma et dermo-épidermite professionnelle ne pouvant supporter autre thérapeutique que sérum de Locke.
T : H³ au tube VII.
M : H³ au tube X.
- 9°
Eczéma et dermo-épidermite des deux membres supérieurs.
T : H³ au tube VII.
M : H³ au tube VI.
- 10° Acamaron... Sueton, n° 5, 6 novembre 1940.
Maladie de Duhring-Brocq très grave (morte 6 mois après).
Eosinophilie dans le sang : 6 %.
Eosinophilie dans les bulles : 10 %.
T : H³ au tube VI.
M : H³ au tube IV.
- 11° Raja... Rocca, n° 13.
Maladie de Duhring-Brocq atypique.
Eosinophilie dans le sang : 5 %.
Eosinophilie dans les bulles : 7 %.
Traitement par le Sulfar.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube VI.
- 12° Pest... Léon, 16 ans, 7 novembre 1940. Traitement externe hôpital.
Réaction sérique.
Arthralgies. Eruptions prurigènes.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube XII.
- 13° F... S., 35 ans, servante salle Garnier, n° 7, 29 octobre 1941.
Choc anaphylactique à la suite d'une injection de cyanure : pâleur, hypotension; vomissements.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube XIV.
- 14° Pierre Ant., février 1940.
Maladie de Nicolas Favre.
Adénites inguinale et iliaque.
Frei très positif.
T : H³ au tube VII.
M : H³ au tube IX.
- 15° E... V. Clinique dermatologique. Février 1940.
Maladie de Nicolas-Favre.
Adénites inguinale et iliaque.
Frei positif.
M : H³ au tube VIII.

- 16° Bordo... Pascal. Service Perrin, n° 8. Octobre 1940.
Maladie de Hansen ancienne.
T : H³ au tube IX.
M : H³ au tube VIII.
- 17° R... Yvonne. Consultation dermatologie.
Maladie de Hansen ancienne et traitée au Chaulmoogra.
T : H³ au tube VII.
M : H³ au tube IX.
- 18° Gaub. Ed... Consultation dermatologie.
Maladie de Hansen mutilante. Pied de phoque.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube VII.
- 19° Pey..., exotique.
Accès palustre : *Plasmodium falciparum*.
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube XIV.
- 20° 16 février 1941. En... Accès palustre. *Plasmodium vivax*.
T : H³ au tube VII.
M : H³ au tube XI.
Après traitement, le 24 février 1941 :
T : H³ au tube VIII.
M : H³ au tube IX.

Essais de conservation de l'alexine en plasma citraté

Dans une communication faite à la Société de Biologie en avril 1940, nous avons indiqué les avantages qu'on pouvait retirer de la conservation de l'alexine en plasma citraté à raison de 1 gr. 20 de citrate de soude pour 100 grs de sang, ou avec un mélange à parties égales avec la solution I. H. T. Nous avons ainsi obtenu des résultats très satisfaisants jusqu'au 75^{me} jour de conservation.

Nous avons repris notre expérimentation en utilisant notre méthode de dosage, plus longue mais plus rigoureuse, et en essayant comparativement divers milieux citratés plus ou moins modifiés par l'addition de substances connues classiquement pour leur action protectrice vis-à-vis de l'alexine ; tel est le cas de l'acide ascorbique et du maltose aux concentrations respectives de 0 gr 05 et 0 gr. 50 pour 100 cc de sang citraté. Nos solutions conservatrices furent préparées par notre ami Dumazert que nous tenons à remercier.

Nous avons donc étudié comparativement les effets des solutions conservatrices suivantes :

- 1°) Citrate basique pH 7,4.
- 2°) Solution de Wurmser : citrate acide pH 4,6.
- 3°) Citrate basique + Vitamine C + Maltose.
- 4°) Solution de Wurmser + Vitamine C + Maltose.
- 5°) Citrate basique + Vitamine C.
- 6°) Solution de Wurmser + Vitamine C.
- 7°) Citrate basique + Maltose.
- 8°) Solution de Wurmser + Maltose.

A — ESSAIS PRÉLIMINAIRES.

1°) Le 5 novembre 1940 :

a) Titrage du pouvoir complémentaire d'un sang citraté avec la solution basique le 19 septembre 1940 (soit plus d'un mois et demi de conservation) :

H³ avec 0 cc 25 de plasma au 1/3 (suspension faible : au 1/40).

b) Sang datant de la même époque, mais conservé en citrate acide + acide ascorbique :

H⁰ à 0 cc 35 dilué au 1/3 en eau physiologique.

H⁰ à 0 cc 40 dilué au 1/3 en eau physiologique.

(Dosage avec la même suspension au 1/40).

2°) Le 9 novembre 1940 :

Dosage comparé des pouvoirs alexiques d'un même sang conservé depuis le 10 octobre 1940 dans les milieux suivants :

- | | | |
|---|---------------------------------------|-----|
| a) Plasma citraté avec solution basique | H ³ à 0 cc 27 dilué au 1/3 | |
| b) Plasma citraté avec solution de Wurmser | H ³ à 0 cc 15 | » » |
| c) Plasma citraté avec solution basique + Maltose ... | H ³ à 0 cc 30 | » » |
| d) Plasma citraté avec sol. Wurmser + Maltose | H ³ à 0 cc 27 | » » |

Notre suspension de globules rouges était relativement faible : 1/40.

3°) Le 23 novembre 1940 :

Pouvoirs alexiques comparés d'un même sang placé depuis

le 29 octobre 1940 dans différents milieux de conservation. Etude comparée de la résistance globulaire.

Sang avec	P. C.	Résistance globulaire
a) Citrate basique	H ³ à 0 cc 35 dilué au 1/3	8,5
b) Wurmser	H ³ à 0 cc 25 » »	5,5
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ³ à 0 cc 43 » »	8,5
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³ à 0 cc 28 » »	6,5
e) Citrate basique + Vit. C	H ³ à 0 cc 28 » »	8,5
f) Wurmser + Vit. C	H ³ à 0 cc 28 » »	7
g) Citrate basique + Maltose	H ³ à 0 cc 45 » »	8,5
h) Wurmser + Maltose	H ³ à 0 cc 30 » »	6,5

Dosages avec suspension globulaire au 1/40.

Donc, le pouvoir alexique le plus élevé ainsi que la résistance globulaire la plus forte s'obtiennent par la conservation en milieu de Wurmser.

4°) Le 7 décembre 1940 :

Sang datant du 3 octobre 1940, conservé à la glacière.

a) Citrate basique	H ³ à 0 cc 40 dilué au 1/3
b) Wurmser	H ³ à 0 cc 25 » »
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ³ à 0 cc 60 » »
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³ à 0 cc 35 » »
e) Citrate basique + Vit. C	H ³ à 0 cc 30 » »
f) Wurmser + Vit. C	H ³ à 0 cc 30 » »
g) Citrate basique + Maltose	H ³ à 0 cc 60 » »
h) Wurmser + Maltose	H ³ à 0 cc 35 » »

Titrage avec notre suspension standard.

B — TITRAGE EN EMPLOYANT NOTRE MÉTHODE.

1°) Le 20 décembre 1940 :

Sang prélevé le 5 octobre 1940 et conservé à la glacière.

a) Citrate basique	H ³ à 0 cc 50 dilué au 1/3
b) Wurmser	H ³ à 0 cc 40 » »
c) Citrate basique + Vit. C Maltose	H ³ à 0 cc 55 » »
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³ à 0 cc 60 » »
e) Citrate basique + Vit. C	H ³ à 0 cc 50 » »
f) Wurmser + Vit. C	H ³ à 0 cc 55 » »
g) Citrate basique + Maltose	H ³ à 0 cc 60 » »
h) Wurmser + Maltose	H ³ à 0 cc 65 » »

2°) Le 27 décembre 1940 :

Sang prélevé le 5 octobre 1940 et conservé à la glacière.

a) Citrate basique	H ³ à 0 cc 60 dilué au 1/3	
b) Wurmser	H ³ à 0 cc 50 »	»
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ³ à 0 cc 65 »	»
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³ à 0 cc 70 »	»
e) Citrate basique + Vit. C	H ³ à 0 cc 65 »	»
f) Wurmser + Vit. C	H ³ à 0 cc 65 »	»
g) Citrate basique + Maltose	H ³ à 0 cc 75 »	»
h) Wurmser + Maltose	H ³ à 0 cc 75 »	■

3°) Sang prélevé le 21 décembre 1940, le matin à 8 heures.

Premier dosage le 21 décembre 1940 au soir : on emploie la notation standard.

a) Citrate basique	H ³ au tube IX	
b) Wurmser	H ³ » VI	
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ³ » X	
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³ » XII	
e) Citrate basique + Vit. C	H ³ » XII	
f) Wurmser + Vit. C	H ³ » XIII	
g) Citrate basique + Maltose	H ³ » XI	
h) Wurmser + Maltose	H ³ » XII	

Deuxième dosage le 8 janvier 1941, après conservation à 15° environ.

a) Citrate basique	H ³ au tube XI	
b) Wurmser	H ³ » VIII	
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ³ » XI	
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³ » XII	
e) Citrate basique + Vit. C	H ³ » XII	
f) Wurmser + Vit. C	H ³ » XIV	
g) Citrate basique + Maltose	H ⁰ » XV	
h) Wurmser + Maltose	H ² » XV	

Troisième dosage le 2 février 1941 après conservation à 15° environ.

a) Citrate basique	H ³ au tube XII	
b) Wurmser	H ³ » VIII	
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ³ » XI	
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³ » XIV	
e) Citrate basique + Vit. C	H ³ » XIII	
f) Wurmser + Vit. C	H ³ » XV	
g) Citrate basique + Maltose	H ² » XV	
h) Wurmser + Maltose	H ⁰ » XV	

Quatrième dosage le 3 mars 1941, après conservation à 15° environ.

a) Citrate basique	H ³ au tube XIV
b) Wurmser	H ³ » X
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ³ » XIII
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³ » XV
e) Citrate basique + Vit. C	H ³ » XV
f) Wurmser + Vit. C	H ^{2,5} » XV
g) Citrate basique + Maltose	H ⁰ » XV
h) Wurmser + Maltose	H ⁰ » XV

Donc, au bout de 2 mois 1/2, bonne conservation avec le Wurmser et avec le citrate basique + Vit. C. + Maltose.

Cinquième dosage le 25 mars 1941, après conservation à la glacière.

a) Citrate basique	H ³ au tube XV
b) Wurmser	H ³ » XIV
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ² » XV
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ⁰ » XV
e) Citrate basique + Vit. C	H ⁰ » XV
f) Wurmser + Vit. C	H ⁰ » XV
g) Citrate basique + Maltose	H ⁰ » XV
h) Wurmser + Maltose	H ⁰ » XV

4°) Sang prélevé le 7 janvier 1941, à 10 heures.

Premier dosage le 8 janvier 1941, à 17 heures.

a) Citrate basique	H ³ au tube VIII
b) Wurmser	H ³ » VIII
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ³ » IX
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³ » X
e) Citrate basique + Vit. C	H ³ » VIII
f) Wurmser + Vit. C	H ³ » XI
g) Citrate basique + Maltose	H ³ » X
h) Wurmser + Maltose	H ³ » X

Deuxième dosage le 10 février 1941, après conservation à 4° environ.

a) Citrate basique	H ³ au tube XV
b) Wurmser	H ³ » XII
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ^{2,5} » XV
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ² » XV
e) Citrate basique + Vit. C	H ³ » XIV
f) Wurmser + Vit. C	H ⁰ » XV
g) Citrate basique + Maltose	H ² » XV
h) Wurmser + Maltose	H ⁰ » XV

Troisième dosage le 25 février 1941, après conservation à 4°.

a) Citrate basique	H ^{2,5}	»	XV
b) Wurmser	H ³	»	XIV
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ⁰	»	XV
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ⁰	»	XV
e) Citrate basique + Vit. C	H ^{2,5}	»	XV
f) Wurmser + Vit. C	H ⁰	»	XV
g) Citrate basique + Maltose	H ⁰	»	XV
h) Wurmser + Maltose	H ⁰	»	XV

5°) Sang prélevé le 22 juin 1941, à 11 heures.

Premier dosage le 22 juin 1941, à 12 heures.

a) Citrate basique	H ³ au tube	VIII
b) Wurmser	H ³	» X
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ³	» X
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³	» XI
e) Citrate basique + Vit. C	H ³	» IX
f) Wurmser + Vit. C	H ³	» XI
g) Citrate basique + Maltose	H ³	» X
h) Wurmser + Maltose	H ³	» X

Deuxième dosage le 10 juillet 1941, après conservation à la glacière.

a) Citrate basique	H ³ au tube	XI
b) Wurmser	H ³	» XII
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ³	» XV
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³	» XIV
e) Citrate basique + Vit. C	H ³	» XI
f) Wurmser + Vit. C	H ³	» XIV
g) Citrate basique + Maltose	H ³	» XII
h) Wurmser + Maltose	H ³	» XIV

Troisième dosage le 27 juillet 1941, après conservation à la glacière.

a) Citrate basique	H ³ au tube	XIV
b) Wurmser	H ³	» XIV
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ³	» XV
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³	» XV
e) Citrate basique + Vit. C	H ³	» XIV
f) Wurmser + Vit. C	H ⁰	» XV
g) Citrate basique + Maltose	H ²	» XV
h) Wurmser + Maltose	H ⁰	» XV

Donc, dans ce cas rare le citrate basique a été aussi satisfaisant que le Wurmser.

6°) Sang prélevé le 25 juin 1941, à 11 heures.

Premier dosage le 25 juin 1941, à 17 heures.

a) Citrate basique	H ³ au tube X
b) Wurmser	H ³ » VI
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ³ » IX
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³ » X
e) Citrate basique + Vit. C	H ³ » VIII
f) Wurmser + Vit. C	H ³ » X
g) Citrate basique + Maltose	H ³ » XI
h) Wurmser + Maltose	H ³ » X

Deuxième dosage le 12 juillet 1941 après conservation à la glacière.

a) Citrate basique	H ³ au tube XIII
b) Wurmser	H ³ » IX
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ³ » XII
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³ » XIV
e) Citrate basique + Vit. C	H ³ » XI
f) Wurmser + Vit. C	H ³ » XIV
g) Citrate basique + Maltose	H ³ » XIII
h) Wurmser + Maltose	H ³ » XV

Troisième dosage le 27 juillet 1941, après conservation à la glacière.

a) Citrate basique	H ³ au tube XV
b) Wurmser	H ³ » XI
c) Citrate basique + Vit. C + Maltose	H ³ » XV
d) Wurmser + Vit. C + Maltose	H ³ » XV
e) Citrate basique + Vit. C	H ³ » XII
f) Wurmser + Vit. C	H ³ » XIV
g) Citrate basique + Maltose	H ³ » XIV
h) Wurmser + Maltose	H ³ » XV

Quatrième dosage le 2 octobre 1941, après conservation à la glacière.

a) Citrate basique	H ⁰ au tube XV
b) Wurmser	H ³ » XV

Les autres tubes contiennent du sang altéré.

En conclusion :

— la solution de Wurmser non modifiée paraît réaliser le milieu idéal pour la conservation de la propriété alexique ;

— vient ensuite la solution : Citrate basique + Vitamine C ;

— les autres solutions donnent des résultats variables mais très nettement inférieurs en moyenne ;

— enfin, le plus mauvais milieu de conservation est le mélange : solution de Wurmser + Vitamine C.

Nous avons donc porté notre choix sur le mélange citraté basique à pH 4,6, formulé ainsi par Wurmser :

Acide citrique	3 grammes
Soude caustique	1 »
Eau distillée	100 »

Nous conseillons d'employer ce milieu dans les proportions suivantes :

Solution conservatrice	1 volume
Sang	5 volumes

A conserver autant que possible à la glacière, en été ; cette précaution n'est pas indispensable.

CONCLUSION

Depuis la découverte du principe bactéricide thermolabile de Buchner, depuis les remarquables travaux de Bordet qui, le premier, isola la propriété alexique, l'étude du pouvoir complémentaire a pris un essor considérable, à en juger par l'importance de la bibliographie qui lui est consacrée.

Au milieu de documents bien souvent contradictoires, nous avons essayé de faire le point d'une question qui, après 45 ans de recherches, reste toujours d'actualité. Nous avons montré pourquoi la chimie n'avait pu résoudre correctement le problème si complexe de la nature et de la composition de l'alexine. Nous avons essayé de mettre en évidence l'importance des phénomènes physiques qui régissent l'action alexique, sans exclure cependant la possibilité d'une intervention biochimique enzymatique. L'étendue même de cette fonction complémentaire est encore mal définie. A côté de phénomènes biologiques qu'on peut lui rattacher avec certitude, certaines relations demeurent à l'état d'hypothèse.

L'origine du principe alexique est toujours imprécise. L'alexine paraît résulter de la synergie de plusieurs tissus parmi lesquels le parenchyme hépatique garde une place prépondérante.

Après avoir étudié les variations physiologiques, nous avons tenté de dégager quelques impressions en ce qui concerne la signification des variations pathologiques. En dehors des phénomènes de choc, anaphylactiques ou traumatiques, d'une certaine importance, et des affections hépatiques, qui entraînent presque toujours une chute du pouvoir complémentaire, le titre alexique a rarement une signification en tant que valeur absolue. Par contre, nous avons cru remarquer que chez un même individu les variations relatives de ce titre représentaient parfois un renseignement intéressant. Une chute alexique régulière et progressive est en général d'un pronostic fâcheux, alors même que le pouvoir complémentaire a pu être supérieur à la normale au début de l'affection. Le fait nous a paru particulièrement net dans le cas des leucémies myéloïdes

ou des anémies. Chez les cardiaques ou chez les néphritiques, de telles variations peuvent constituer un signe de décompensation ou être l'indice de modifications physico-chimiques profondes du complexe sérique.

Si le problème concernant la nature de l'alexine est relativement peu avancé, les applications que l'on a retirées de l'existence de ce principe se sont sans cesse perfectionnées. Nous avons esquissé rapidement les étapes de cette évolution, en indiquant avec plus de détails les points qui ont été l'objet de recherches personnelles. La modeste contribution que nous avons apportée à l'étude clinique et expérimentale du pouvoir complémentaire consiste essentiellement :

1°) En la mise au point d'une méthode convenable de dosage de l'alexine.

2°) A l'aide de cette méthode, durant cinq années, nous avons établi de nombreux titres alexiques au cours des affections les plus diverses. Nous nous sommes plus particulièrement attaché à l'étude des variations du pouvoir complémentaire dans certaines affections hématologiques et en particulier dans les leucémies, point de départ de ce travail.

3°) Du point de vue expérimental, nous croyons avoir démontré l'absence de relations entre la richesse du sang en vitamine A et la valeur du titre alexique. Par contre, l'intervention de l'alexine comme agent bactéricide nous a paru des plus nettes.

4°) Le difficile problème de la conservation de l'alexine a tout spécialement retenu notre attention. L'expérience nous a incité à porter notre choix sur le plasma humain citraté par la solution de Wurmser.

Nous avons fixé les conditions optima d'utilisation de ces alexines ainsi conservées, dans les réactions de déviation du complément et en particulier dans la réaction de Bordet-Wassermann.

Ce procédé de conservation permet d'envisager la possibilité d'une thérapeutique alexique grâce à la plasmathérapie.

5°) Cependant, l'existence de l'alexine ne représente pas toujours un avantage en bactériologie. Dans le cas des hémocultures, par exemple, elle peut constituer un facteur de gêne dont l'importance n'est pas négligeable. C'est pourquoi nous avons cru bon d'indiquer les moyens de tourner cet obstacle.

6°) Enfin, à côté de faits expérimentaux ou cliniques qui ont pu nous conduire à ces applications pronostiques, diagnostiques,

sérologiques ou thérapeutiques, il existe une accumulation de documents dont l'interprétation est impossible en l'état actuel de nos connaissances. Peut-être serviront-ils, plus tard, de base à l'élaboration de futures théories plus fécondes, pour aboutir, sans doute, à des résultats totalement différents de ceux que l'on avait primitivement envisagés, ou feront-ils à jamais partie de cette multitude inévitable d'essais infructueux dont nous parle Jean Fiolle : « Il faut une immense déperdition de volonté pour que se produise un essai heureux comme il faut que se dispersent des millions de grains de pollen pour une seule fécondation ». De toutes façons, même lorsqu'elles conduisent à des résultats négatifs, les recherches valent d'être signalées. Elles ont au moins le mérite de débayer une partie de ce champ toujours si vaste de l'expérimentation et évitent ainsi de nouveaux déboires aux biologistes qui auraient pu s'engager sur ces voies sans issue.

Il est évident que le jour où le problème de l'alexine aura reçu une solution définitive, il faudra beaucoup moins de deux cents pages pour en exposer la substance.

LU ET APPROUVÉ :
Le Président de Thèse,
Lucien CORNIL

VU ET APPROUVÉ :
Le Doyen,
Lucien CORNIL

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Aix, le 25 Juin 1942
Le Recteur,
Pierre MARTINO

BIBLIOGRAPHIE

TRAVAUX CITES

- ABBOT (A.-C.) et BERGEY (D.-H.). — The influence alcoholic intoxication upon certain factors concerned in the phenomenon of haemolysis. *Centralblatt für Bakt.*, t. XXXII, p. 260, 1903.
- ABELIN (S) und STINER (O.). — Die Einwirkung des ultravioletten Lichtes auf das Komplement des Meerschweinchenserums. *Zeitschr. f. Imm. forsch u. exper. Therap.*, t. XIX, p. 427, 1913.
- ACQUAVIVA COPPOLA (M.). — Ricerche sull azione parasitica del siero umano normale verso la *Castellani evansi*. *La Riforma Medica*, n° 3, p. 83, 1938.
- ADAIR (F.-L.). — The hemolytic complement in maternal and fetal blood. *Trans. Americ. Gyn. Soc. Phila.*, t. XL, p. 427, 1915.
- ADDIS (T.). — *Jl. Infect. Dis.*, t. X., p. 200, 1912 (Cité par Osborn).
- AGASSE-LAFONT (E), GRIMBERG (A.) et MUTERMILCH (S.). — Les hémocultures. Techniques et interprétations. *Le Monde Médical*, n° 923, pp. 769-782, 1^{er} octobre 1938.
- ALESSANDRO (G.). — Studio dei sieri cosiddetti labile. *Biochem. terap. sper.*, t. XXI, p. 137, 1934.
- ANDERSEN (E.) AND EMMERLICH (E.) (1912). — *Z. Immun. Forsch.*, t. XLVII, p. 565, 1930 (Cité par Osborn).
- ANDREESCO (M.). — Le rôle du bicarbonate de soude dans la réaction de fixation du complément. *C. R. Soc. Biol. Paris*, t. CIV, pp. 937-39, 1930.
- ANGLESIO (D.). — Rapporti tra vitamine ed alcuni potere immunitari. Vitamina B. *Giorn. Batt. e Imm.*, t. XXI, n° 6, p. 933.
- ANGLESIO (D.). — Rapporti tra vitamine ed alcuni potere immunitari. Vitamine E. *Ibid.*, t. XXI, n° 6, p. 955.
- ARDY (C.). — *Riv. Clin. pediat.*, t. XXXVII, pp. 495-503, 1939.
- ARLOING (F) et LANGERON (L.). — Action des métaux à l'état colloïdal sur les propriétés du complément. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, p. 778, 1920.
- ARLOING (F.), LANGERON (L.) et SEMPÉ. — Recherches comparatives sur l'action de certains agents physiques sur le bactériophage, une diastase et le complément. *Ibid.*, t. XCII, p. 260.
- ASCOLI (S.). — *Deutsch Med. Wochenschr.*, n° 41, 1902.

- AUGUSTE (C.). — Sur le dosage de l'alexine de cobaye en présence d'albumines ou de globulines de sérum de cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXVI, (18), p. 199, 1934.
- AUGUSTE (C.). — Sur la réaction de Wassermann. Pouvoir inhibant de la fraction de sérum précipitable par l'acide chlorhydrique. *Ibid.*, t. CXX, p. 885, 1935.
- AUGUSTE (C.). — La réaction de Bordet-Wassermann dans le sérum débarrassé de la fraction précipitable par l'acide chlorhydrique. *Bull. des Biol. Pharmaciens*, n° 33, 1936.
- AZZI (A.). — *Arch. di Fisica*, t. XVI, p. 95, 1918.
- AZZI (A.). — Sui fattori d'inattivazione del complemento nel sistema emolitico. *Hematologica*, t. I, pp. 126-140, 1920.
- BAIL (O.). — Untersuchungen über die Beeinflussung der Serum alexine durch Bacterien. *Archiv. f. Hyg. Munchen u. Leipzig*, t. XXXV, pp. 284-354, 1899.
- BAIL (O.) und PETTERSON (A.). — Untersuchungen über natürliche und Künstliche Milzbrandimmunität. VIII. Versuche zu einer Erklärung der natürlichen Immunität des Huhnes. *Centralbl. f. Bakt.*, t. XXXV, pp. 102-247, 1903.
- BAIL (O.). — Versuche über die bakterizide Tätigkeit des Serums. *Deutsch. Med. Woch.*, t. XXI, p. 1788, 1905.
- BARBIERI (D.). — *Bol. Ist. Sier. Milan*, t. IX, p. 575, 1930.
- BARCROFT (F.-W.), QUICK (A.-J.) and STANLEY BROWN (M.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.*, t. XXI, p. 791, 1934 (cité par Osborn).
- BARONI (V.) et JONESCO MIHAICSTI (C.). — Destruction par les rayons ultra-violets des principes actifs normaux et préparés. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXVIII, p. 393, 1910.
- BATTELLI (F.). — Pouvoir hémolytique du sérum sanguin comparé à celui de la lymphe. *Ibid.*, t. LVI, p. 199, 1904.
- BELFANTI (S.). — Les lipoides dans l'hémolyse. *Rapport 1^{er} Congrès international de Microbiologie, Paris*, 1930.
- BELLELI (D.). — Il dosaggio del complemento umano in vari stadi morbosì. *Bol. Ist. Sier., Milan*, t. XIII, p. 890, 1934.
- BENDER (W.) und PRAUSNITZ (C.). — Ueber die Beziehung zwischen Temperatur und Komplementwirkung. *Centralbl. f. Bakt.*, t. LXXXIX, p. 219, 1922.
- BERGMANN (G.) et KEUTHE (W.). — *Z. exp. Path. Ther.*, t. III, p. 255, 1906 (cité par Osborn).
- BERNSTEIN (R.-E.). — A note on the influence of food on the haemolytic complement of human beings. *S. Afric. J. Med. Sc.*, t. I, p. 169, 1936.
- BESREDKA (A.). — Le choc anaphylactique et le principe de désensibilisation. 1. vol., Masson éditeur, Paris, 1930.
- BESSEMANS (A.). — Contribution à l'étude des diverses alexines. *Zeitsch. f. Immun.forsch. u. exper. Therap.*, t. XIX, p. 380, 1913.

- BESSON (A.). — Technique microbiologique et sérothérapie. 1 vol., Ballière éditeur, Paris, 1914.
- BIER (O.-G.). — Sur le mécanisme de l'inactivation du troisième composant de l'alexine par les émulsions de levures. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXVII, pp. 720-22, 1934.
- BIER (O.-G.). — Sur la fixation successive des compléments. *Zeitsch. f. Immun.*, t. LXXXIX, pp. 218-49, 1936.
- BIGGER (J.-W.). — The loss of complementing power in guinea pig serum at various temperatures. *The Jl. of Path. and Bacteriol.*, t. LXXXIX, p. 323, 1918-19.
- BÖHNCKE (K.-E.). — Beiträge zur Kenntnis der bakteriziden Komplement. *Zeitsch. f. Immun.forsch. u. exper. Therap.*, t. XII, p. 240.
- BONNANO (A.-M.). — Influence de l'alimentation acidotique et alcalotique sur le pouvoir complémentaire du sérum de cobaye. *Boll. Sez. Italiana Soc. internaz. Microb.*, t. III, p. 653, 1931.
- BORDET (J.). — Traité de l'immunité. 1 vol., Masson éditeur, Paris, 1^{re} édition, 1920; 2^{me} édition, 1939.
- BORDET (J.) et GAY. — Sur les relations des sensibilisatrices avec l'alexine. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. XX, p. 967, 1906.
- BORDET (J.) et GAY. — L'absorption de l'alexine et le pouvoir antagoniste des sérums normaux. *Ibid.*, t. XXII, p. 625, 1908.
- BORN (J.). — *Zeitsch. f. Immunität.*, t. XLIV, p. 33, 1925 (cité par Diacono et Osborn).
- BOUTARIC (A.). — Remarques sur quelques recherches récentes concernant les protéines sériques. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXX, pp. 135-37, 1939.
- BRAND (E.). — Ueber das Verhalten der Komplement bei der Dialyse. *Berlin. Klin. Woch.*, t. XLVI, p. 1075, 1907.
- BRAUN (H.). — Zur Kenntnis des bakterieziden Komplementes. *Zeitsch. f. Immun.forsch. u. exper. Therap.*, t. IX, p. 685, 1911.
- BRAUN (H.). — Beiträge zur Kenntnis des Komplementes. *Bioch. Zeitsch.*, t. XXXI, p. 65, 1911.
- BRINKMANN (R.). — Studien über den Komplementgehalt des menschlichen Blutes. *Centralbl. f. Bakt.*, t. LXXXVII, p. 50, 1922.
- BROCC-ROUSSEU et ROUSSEL. — Le sérum normal; propriétés physiologiques. 1 vol. 630 p., Masson éditeur, Paris, 1939.
- BROOKS (S.). — The kinetics of inactivation of complement by light of complement action. *Jl. gen. Physiol.*, t. III, pp. 169 et 185, 1920 (cité par Bellanti).
- BROWNING (C.-H.) und MACKIE (T.-J.). — Ueber die Beziehungen der Komplement-wirkung des frischen Serums bei der aktivierung der Immunkörper und des Kobragiftes. Ein Beitrag zur Konstitution des Komplement. *Biochem. Zeitschr.*, t. XLIII, p. 229, 1912.
- BROWNING (C.-H.) und MACKIE (T.-J.). — The preservation of complement by freezing. *The Jl. of Path. and Bacteriol. Cambridge*, t. XVIII, p. 442, 1913-14.

- BROWNING (C.-H.) and MACKIE (T.-J.). — Studies on complement action with special reference to the fractioning of complement by means for ammonium sulphate. *Zeitschr. f. Immun. u. exper. Therap.*, t. XXI, p. 422, 1914.
- BRUSCHETTINI (G.). — *Pathologica*, t. XXVI, p. 319, 1934
- BRUYNOGHE et BESSEMANS. — Recherches expérimentales au sujet du phénomène de Brand. *Bull. Ac. Roy. de Méd. de Belgique*, t. XXVIII, pp. 349-69, 1914.
- BUCHNER (H.). — Zur Kenntnis der Alexine, sowie der spezifisch bakteriziden und spezifisch hämolytischen Wirkungen. *Münch. Med. Wochens.*, t. CLVII, p. 277, 1901.
- BULLOCH (W.-C.). — *Centralbl. f. Bakt.*, t. XXIX, p. 724, 1901.
- BUNIM (J.-J.) and WIESS (F.-A.). — *Jl. Amer. Med. Assoc.*, t. C, p. 178, 1933 (cité par Osborn).
- BURNETT. — Note on the relation of alexine to thrombin. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med N. Y.*, p. 146, 1913
- BUSSE (W.). — Ueber die Beeinflussung des haemolytischen Komplements durch Injektion Leucocytosis erregender Mittel. *Centralbl. f. Bakt.*, t. XLVII, p. 366, 1908.
- BUTLER (A.-M.) et MONTGOMERY (H.). — *Jl. of Biol. Chem.*, t. XCIX, p. 173, 1932.
- CADHAM (F.-T.). — *Canada Med Ass. Jl.*, t. XVI, p. 256, 1926 (cité par Osborn).
- CANNON (W.-B.). — Bodely Changes in Pain, Hunger, Fear and Rage. *D. Appleton and Co., New-York, London.*
- CANTACUZÈNE (J.). — Réactions d'immunité chez *Sipunculus nudus* vacciné contre une bactérie. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXVII, pp. 264-67, 1922.
- CANTACUZÈNE (J.). — Sur le sort ultérieur des urnes chez *Sipunculus nudus* au cours de l'infection et de l'immunisation. *Ibid.*, t. LXXXVII, pp. 283-85, 1922.
- CANTOR (G.). — *Giorn. Batt. e Imm.*, t. IV, p. 128, 1929
- CAPART (J.). — Les alexines vis-à-vis de leurs globules sensibilisés. *C. R. Soc. Biol.*, t. XCVIII, p. 1250, 1928.
- CARBONE (D.) e ARNAUDI (C.). — L'immunità nelle piante. *Monogr. Istituto sieroter. milanese, Milan*, 1930.
- CATHOIRE (E.). — Baisse du pouvoir alexique du sérum dans l'accès paludéen. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX, p. 562, 1910.
- CERBONE E GATTO. — Ricerche sulla emolisi specifica: sul potere litico spontaneo dei sieri per le emazie eterologie. Capacità alessinica. *Riv. di pat. sper.*, t. XIV, pp. 25-46, 1935.
- CERNOVODEANU (P.) (M^{lle}) et HENRI (V.). — Activation du pouvoir hémolytique de certains sérums par les sels de magnésium. *C. R. Ac. Sc.*, t. LVIII, p. 571.
- CERNOVODEANU (P.) (M^{lle}) et HENRI (V.). — Différence entre le sérum chauffé à 56° et le sérum normal. Critique des théories qui admettent l'existence des alexines. *C. R. Soc. Biol.*, t. LVII, pp. 858-60, 1905.

- CHESTER (K.-S.). — *Quart. Rev. of Biol.*, t. VIII, p. 74, 1933 (cité par Magrou).
- CHEVREL (F.) et CHEVREL (M.-L.). — Le séro-diagnostic de la syphilis. 1 vol., 12 p., Imprimerie Leconte, Marseille, 1938.
- CHEVREL (M.-L.) et RANQUE (J.). — L'alexine au cours des leucémies. *Séance Soc. Biol Marseille*, 13 juin 1939. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXXII, pp. 526-27, 1939.
- CHIEN-CHIEN YOUNG. — Action d'un agent réducteur sur l'alexine. *Chin. Med. Jl.*, II (Suppl.), p. 307, 1938.
- CHURG (J.). — Die Rolle des Sexualen Apparates bei den Schwankungen des Komplementsgehalts im Kaninchenserum unter dem Einfluss des gonadotropen Hormons. *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. exper. Therap.*, t. LXXXIX, p. 488, 1936.
- CIANCI (V.) e MATARESE (G.). — Azione della vitamina C sul complemento. *Boll. Soc. It. Sper.*, n° 7, p. 769, 1940.
- CICCHELLA (T.). — Gravidenze e Complemento. *Arch. Ostet. Ginec.*, t. XLI, pp. 113 et 256, 1934.
- CIUCA (M.). — L'action de quelques substances médicamenteuses sur le pouvoir alexique du sérum. *Bull. Soc. Path. exot.*, t. VII, p. 626, 1914.
- COCA (A.-F.). — A study of the anticomplementary action of yeast, of certain bacteria and of cobra venom. *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. exper. Therap.*, t. XXI, p. 604, 1914.
- COCA (A.-F.). — A study of the serum of complement deficient guinea pigs. *Proced. of the Soc. for experim. Biol. and Med.*, t. XVIII, p. 71, 1920.
- COLEBROOK (L.), EIDENOW (A.) and HILL (L.). — The effect of radiation on the bactericidal power of the blood. *The British Jl. of experim. Path.*, t. V, p. 54, 1924.
- COLLIP (J.-B.). — *Jl. Biol. Chem.*, t. XLII, p. 207, 1920.
- COLOMBO (C.). — Il potere complementare, il potere battericida e il potere fagocitario nei lattanti affetti da malattie della nutrizione. *Giorn. Batt. e Imm.*, t. XXII (3), p. 443, 1939.
- COLOMBOO (C.) e ZANETTI (L.). — Shock traumatico sperimentale. Modificazioni del potere complementare, battericida e fagocitario del sangue. *Ibid.*, t. XVIII, pp. 800-11, 1937.
- CORI (R.) und RADNITZ (G.). — Ueber den Gehalt des menschlichen Blutserums an Komplement und Normalamboceptor für Hammelblutkörperchen. *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. exper. Therap.*, t. XXIX, p. 445, 1920.
- DA COSTA CRUZ (J.). — Teneur du sérum en alexine dans la fièvre jaune. *C. R. Soc. Biol.*, t. CI, p. 948, 1929.
- DA COSTA CRUZ (J.). — Diagnostic de la fièvre jaune par le dosage de l'alexine. *Ibid.*, t. CI, p. 954, 1929.
- DA COSTA CRUZ (J.). — Variations des différentes fractions de l'alexine dans la fièvre jaune. *Ibid.*, t. CII, p. 51, 1929.
- DA COSTA CRUZ (J.). — Sur un cas curieux de fièvre jaune au point de vue diagnostique par le dosage de l'alexine. *Ibid.*, t. CIV, p. 623, 1930.

- DA COSTA CRUZ (J.) et PENNA (H. de A.). — Sur un nouveau constituant de l'alexine. *Ibid.*, t. CIV, pp. 688-89, 1930.
- DA COSTA CRUZ (J.) et VILLELA (G.). — L'alexine et le fibrinogène dans l'intoxication chloroformique et dans la fièvre jaune. *Ibid.*, t. CXII, pp. 915-17, 1933.
- COULTER (B.-C.). — The thermolability of complement in relation to the hydrogen ion concentration. *The Jl. of Gener. Physiol.*, t. III, p. 771, 1921.
- COURMONT (P.) et DUFOUR (A.). — De la destruction du complément par l'agitation. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXII, p. 916, 1912.
- COURMONT (P.) et DUFOUR (A.). — Absence du pouvoir antihémolytique et réactivation des sérums inactivés après agitation. *Ibid.*, t. LXXII, p. 1014, 1912.
- COURMONT (P.) et DUFOUR (A.). — Résultats comparés de l'agitation du complément dans l'air, l'oxygène, le vide et l'azote. *Ibid.*, t. LXXII, p. 1058, 1912.
- COURMONT (P.), NOGIER et DUFOUR (A.). — Disparition de l'alexine des sérums par les rayons ultra-violet. *Ibid.*, t. LXXIV, p. 1132, 1913.
- CRAIGIE (J.). — *Brit. Jl. Exp. Path.*, t. XII, p. 75, 1931 (cité par Osborn).
- CRAMER (W.) and KINGBURY (A.-N.). — *Ibid.*, t. V, p. 300, 1924.
- CRUIKSHANK (J.) und MACKIE (T.-J.). — Ueber Aenderungen der Komplement-Komponenten (Mittelstück und Endstück) durch die Einführung von Lecithin in Komplementhaltiges Serum. *Biochem. Zeitschr.*, t. XLII, p. 414, 1912.
- CULBERSTON (J.-T.). — The cercaricidal action of normal serums. *The Jl. of Parasitology*, t. XXII, p. 111, 1936.
- DANYSZ. — Quelques expériences sur l'action des alexines. *C. R. Soc. Biol.*, t. I, pp. 534-38, 2^{me} semestre 1899.
- DEAN (G.). — An experimental inquiry into the nature of the substance in serum which influences phagocytosis. *Proc. of the Roy. Soc. of Med. Lond.*, t. LXXVI, p. 506, 1905.
- DEIZLER (K.). — Zur Kenntnis der sogenannten des Komplements. *Zeitschr. f. Imm.forsch. u. exper. Therap.*, t. LXXIII, p. 365, 1931-32.
- DELAGE (B.). — Le système lipoprotéique du sérum sanguin. *Arch. Inst. Pasteur du Maroc*, fasc. 1, pp. 1-232, 1938.
- DEUTH VALÉRY. — Méthode précise de dosage relatif de l'alexine. Note présentée par Levaditi. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVIII (17), p. 246, 1938.
- DEUTH (V.) et LOMINSKI (I.). — Influence de l'ultra-centrifugation sur les propriétés de l'alexine et sur le pouvoir fixateur des réagins syphilitiques. *Bull. Ac. Méd.*, t. CXVIII (29), pp. 220-228, 1937.
- DIACONO (H.). — L'hémolyse. 1 vol., Maloine éditeur, Paris, 1934.
- DICK (F.-G.). — *Jl. of Inf. Dis.*, t. XII, p. 111, 1913 (cité par Diacono).
- DOLADILHE (M.). — Contribution à l'étude des globulines du sang en rapport avec son pouvoir alexique. *C. R. Ac. Sc.*, t. CCI, pp. 689-90, 1935.

- DOLADILHE (M.). — Sur la dissociation de la globuline en deux constituants nettement différenciés: l'hémoglobuline et la protéine visqueuse (Institut d'Hygiène et de Bactériologie de Dijon). *Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. LVIII, pp. 624-51, 1937.
- DOLADILHE (M.) et LEGRAND (P.). — La protéine visqueuse des sérums syphilitiques. *Bull. des Biol. Pharmaciens*, n° 36, 1^{er} trimestre 1937.
- DOLADILHE (M.) et MAZILLE (M.). — *In vitro* un seul constituant de l'édifice protéosérique fixe les matières colorantes. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXX, pp. 128-29, 1939.
- DOLADILHE (M.) et MAZILLE (M.). — Sur la purification de la protéine visqueuse d'un immunosérum. *Ibid.*, t. CXXX, pp. 1116-18, 1939.
- DOLADILHE (M.) et MAZILLE (M.). — Sérums chauffés et sérums non chauffés. *Ibid.*, t. CXXXI (19), pp. 752-754, 1939.
- DOLADILHE (M.) et M^{lle} MICHEL (M.). — Contribution à l'étude des propriétés alexiques de la protéine C. *C. R. Ac. Sc.*, t. CCII, pp. 1950-52, 1936.
- DOUGLAS (S.-R.) et SMITH (W.). — *Brit. Jl. Exp. Path.*, t. XI, p. 96, 1930 (cité par Osborn).
- DOURIS (R.), MONDAIN (C.) et BECK (J.). — Action dissolvante de l'alexine en milieu salin isotonique *C. R. Soc. Biol.*, t. CX, p. 15, 1932.
- DRESEL (E.-G.). — Bakterien tötende Kräfte im Serum von gesunden Menschen und Kaninchen und von Menschen und Kaninchen bei pathologischen Zuständen. *Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh.*, t. C, p. 113, 1923.
- DRIHON (A.) (M^{me}). — Pouvoir alexique des sérums de téléostéens. *C. R. Ac. Sc.*, t. CCVI, p. 1049, 1938.
- DUFOUR (J.). — Le taux de l'alexine et le pouvoir anticomplémentaire. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVI, p. 498, 1937.
- DUNGERN (E.) (von). — Beiträge zur Immunitätslehre. *Münch. med. Woch.*, t. XLVII, p. 677, 1900.
- DUNGERN (E.) (von) et COCA. — *Ibid.*, t. LV, p. 105, 1907. *Biochem. Zeitschr.*, t. XII, p. 407, 1908 (cité par Diacono).
- EAGLE (H.). — *Jl. Gen. Physiol.*, t. XII, pp. 821-25, 1929 (cité par Osborn).
- EAGLE (H.) and BREWER (G.). — *Ibid.*, t. XII, p. 846, 1929 (cité par Osborn).
- ECKER (E.). — Quantitative relations between amboceptor and the serum of complement deficient guinea pig. *The Jl. of inf. dis.*, t. XXIX, p. 611, 1921.
- ECKER (E.). — The action of the visible spectrum on complement. *Ibid.*, t. XXXI, p. 356, 1922.
- ECKER (E.), KLINE (B.-S.) and DE CALUWE (A.). — The relation of reduction of leucocytes and platelets to complementing power of serum. *Ibid.*, t. XXXI, p. 361, 1922.
- ECKER (E.), KOVACS (J.) et PILLEMER (L.). — Complément et choc anaphylactique. *Enzymologia*, t. VII, pp. 305-06, 1939.
- ECKER (E.), PILLEMER (L.), MARTIENSEN (E.-W.) et WERTHEIMER (D.). — *Jl. Biol. Chem.*, t. CXXIII, p. 351-57, 1938.

- ECKER (E.), PILLEMER (L.), WERTHEIMER (D.) et GRADIS (H.). — Influence de l'acide ascorbique sur le titre alexique: *Jl. of Imm.*, t. XXXIV, p. 19, p. 39, p. 45, 1938.
- ECKER (E.) and ROGOFF (J.-M.). — Complementing activity of the blood serum with relation to adrenal deficiency. *The Jl. of Immun.*, t. VI, p. 355, 1921.
- EHRlich, EHRlich et MORGENROTH, EHRlich et SACHS. — Voir EHRlich (P.). — Collected studies on immunity. *Transl. by C. Bolduan New-York*, 1906. *J. Willey and Sons*, 1 vol. 597 p. (cité par de nombreux auteurs: Bordet, Brocq-Rousseau et Roussel, Diacono, Osborn).
- EICKE und MASCHER (W.). — Komplementschwund bei unbehandelter Spätsyphilis. *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. exper. Therap.*, t. XXVI, p. 620, 1917.
- ELIASBERG (J.). — Ueber das Fehlen freien Komplementes in Blute Lepröser. *Deutsch. med. Woch.*, 37^{me} année, p. 302, 1911.
- ENGEL (C.-S.). — Ueber den Komplementgehalt des Blutes Krebskranker. *Ibid.*, 36^{me} année, p. 986, 1910.
- EULER (H.) (von) et GARD (S.). — *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. exper. Therap.*, t. LXXII, p. 113, 1931.
- FABIAN (A.). — Changements physico-chimiques du sérum sanguin dus à son inactivation par le courant galvanique. *Ceska dermatologie*, t. XV, pp. 13, 36, 80, 114, 130, 166.
- FAIRLEY (N.-H.) and STEWART (C.-A.). — *Cerebrospinal Fever Quarantine Service, Publication 9, Commonwealth of Australia* (cité par Osborn).
- FALLOISE. — Sur l'existence de l'alexine hémolytique dans le plasma sanguin. *Acad. Roy. de Belgique, Bull. de la Clin. de Bruxelles*, pp. 521-96, 1903.
- FAMULARI (S.). — *Giorn. Batt. e Imm.*, t. VII, p. 699, 1931; *Ibid.*, t. VIII, p. 342, 1932.
- FASSIN (L.). — Rôle de l'iode dans l'augmentation des propriétés du sérum sous l'influence des produits thyroïdiens. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXVI, p. 457, 1909.
- FASSIN (L.). — Sur le pouvoir alexigène de la thyroïde délipoidée. *Ibid.*, t. LXIX, p. 498, 1910.
- FERRAI. — *Pathologica*, n° 20, 1909.
- FERRANTI (F.). — Sulle proprietà del siero fresco. Nota II. Contributo alla conoscenza del complemento. *Boll. Ist. Sier. Mil.*, t. XVIII, n° 9, p. 599, 1938.
- FERRATA (A.). — Die Unwirksamkeit der Komplexen Hämolsine in salzfreien lösungen und ihre Ursache. *Berlin. Klin. Woch.*, t. XLIV, p. 366, 1907.
- FINDLAY (G.-M.). — *Brit. Jl. Exp. Path.*, t. VI, p. 16, 1925.
- FINDLAY (G.-M.) and MACKENZIE (R.). — *Biochem. Jl.*, t. XVI, p. 574, 1922 (cité par Osborn).
- FINDLAY (G.-M.) ad MACLEAR (I.). — *Ibid.*, t. XIX, p. 63, 1925 (cité par Osborn).
- FINE (J.). — *Ibid.*, t. XXIV, p. 1282 (cité par Osborn).
- FIORITO (G.). — La variazioni di titolo del complemento di una cavia. *Ann. di Med. Micro. e colo.*, t. II, p. 276, 1924.

- FISCHER (G.). — The effect of the normal bactericidins on *B. coli* together with some critical observations on the traditional reactivation technique. *Acta Path. and Microb. Scand.*, t. XIII, p. 190, 1936.
- FLEXNER (S.) and NOGUCHI (H.). — Snake venom in relative to haemolysis, bacteriolysis and toxicity. *The Jl. of experim. Med.*, t. VI, p. 277, 1906.
- FONDÉ (C.). — *Jl. Amer. Med. Ass.*, t. CV, p. 110, 1935 (cité par Osborn).
- FRAENKEL (C.) and SOBERNHEIM. — *Hyg. Rdsch.*, t. IV, p. 97 et 195 (cité par Osborn).
- FRÉMOND (Thérèse). — Extension de techniques employées en pathologie animale à l'étude des réactions de la cellule végétale à certaines infections. *Ann. Inst. Pasteur*, t. LVIII, pp. 531-591, 1937.
- FREUND (R.). — Ueber das Verhalten einer modifikation des sog Künstlichen Komplement bei der Wassermann reaktion. *Zeitschr. f. Hyg.*, t. XCVII, p. 370, 1929.
- FRIEDBERGER (E.). — Ueber Haltbarmachung der Komplemente. *Berlin. Klin. Woch.*, t. XLIV, p. 1299, 1907.
- FRIEDBERGER (E.). — Ueber das Verhalten des Komplement in hypertonischen Salzlösungen. *Centr. f. Bakt.*, t. XLVI, p. 441, 1908.
- FRIEDBERGER (E.), ANDERSON (O.), CALLERIO (C.) and RUTCHKO (I.). — *Zeitschr. f. Imm. forsch.*, t. LXXII, p. 225, 1931.
- FRIEDBERGER (E.) und HARTOCH. — Ueber das Verhalten des Komplements bei der aktiven und passiven Anaphylaxie. *Ibid.*, t. III, p. 581, 1909.
- FRIEDBERGER (E.) und SALECKER. — Ueber Anaphylaxie. Ist das Kaolin imstande Ambozeptor zu laden? *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. exper. Therap.*, t. XI, p. 574, 1911.
- FRIEDBERGER (E.) und SCIMONE (V.). — *Zeitschr. Imm forsch.*, t. XXXVII, p. 341.
- FRIEDBERGER (E.) und SEELIG (A.). — *Centralbl. f. Bakt.*, t. XLVI, p. 421, 1908.
- FRIEDEL SIEGFRIED. — Ueber die einwirkung von aderlässen auf die vasserstoffkonzentration und die bakterizidie des Kaninchenblutes. *Zeitschr. Immunitätsf.*, t. XCV, p. 31, 1939.
- FUCHS (H.-J.) (Institut Wassermann, Berlin). — Ueber die beteiligung des Komplementes bei der blutgerinnung. VII. Zur identität des prothrombins mit dem Komplementmittelstück. *Zeitsch. f. Imm. forsch. u. exper. Therap.*, t. LXII, p. 107.
- FUCHS (H.-J.). (Inst. Wassermann, Berlin). — Im zirkulierenden blut ist normalerweise kein freies Komplement vorhanden. *Ibid.*, p. 117.
- FUCHS (H.-J.). (Inst. Wassermann, Berlin). — Ueber die Einwirkung von Kohlensäure auf die Komplementwirkung. II. Ein Weiterer Beitrag zur Identität von Prothrombin und Komplement Mittelstück. *Ibid.*, t. LXIX, p. 51, 1930.
- FUCHS (H.-J.). (Inst. Wassermann, Berlin). — Herstellung eines reinen und stabilen Plasmas mittels einfachen Zentrifugieren aus Säugetierblut. *Ibid.*, t. LXIX, p. 305, 1930.
- FUCHS (H.-J.). (Inst. Wassermann, Berlin). — Ueber den « Komplementverbrauch » bei der Haemolyse. *Ibid.*, t. LXIX, p. 330, 1930.

- FUCHS (H.-J.). (Inst. Wassermann, Berlin). — *Ergbn. Enzym. forsch.*, t. II, p. 282, 1933.
- FUCHS (H.-J.) (Inst. Wassermann, Berlin), FALKENHAUSEN (M.) (von) und HARTMANN (E.). — Ueber die Beteiligung des Komplements bei der Blutgerinnung. Eine neue Theorie ueber den Ablauf der Blutgerinnung. *Zeitsch. f. die gesammte exper. Med.*, t. LXIV, p. 227, 1929.
- GAULTIER (R.). — Les opsonines et la thérapeutique opsonisante par les vaccins de Wright. 1 vol., 78 p., 30 fig., Baillière et Fils éditeurs, Paris, 1909.
- GAY (E.-P.). — Alexine activity of the blood serum of cadavers. *Jl. of Med. Res.*, t. XVII, p. 361, 1907.
- GAY (E.-P.). — The fixation of alexines by specific serum precipitates. *Centr. f. Bakt.*, t. XXIX, pp. 603-10, 1905.
- GAY (E.-P.) and AYER (F.-B.). — The determination of the alexic activity of human blood serum. *Jl. of Med. Res.*, t. XVII, p. 341, 1907.
- GENGOU (O.). — Contribution à l'étude de l'origine de l'alexine des sérums normaux. *Ann. Inst. Past.*, t. XV, pp. 68 et 232, 1901.
- GENGOU (O.). — Recherches sur les relations de l'alexine avec les microbes sensibilisés. *Zeitschr. f. Immun. u. exper. Therap.*, t. IX, pp. 344-58, 1911.
- GEORGEVITCH (A.). — Action neutralisante des microbes tués sur le pouvoir bactéricide du sérum humain. *C. R. Soc. Biol.*, t. XCV, p. 1099, 1926.
- GILDEMEISTER (E.). — Wirkung des antiiformics auf Bakterien Toxine verschiedener Herkunft rote Blutkörperchen und Serum Eiweiss. *Arb. a Kais. Gesund.*, t. XXXVIII, p. 261, 1911.
- GINSBURG (S.-J.) et KALININE (W.-S.) (Institut Metchnikov, Moscou). — Die wirkung der chemischen beimschungen der NaCl, präparate auf die hämolyse. *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, t. XLIX, p. 62, novembre 1926.
- GINSBURG (S.-J.) et KALININE (W.-S.) (Institut Metchnikov, Moscou). — De la conservation du complément. *Jl. de Microbiologie (russe)*, t. V, p. 52, 1927.
- GINSBURG (S.-J.) et KALININE (W.-S.) (Institut Metchnikov, Moscou). — *Zeitschr. f. Immun. forsch.*, t. LXIII, p. 107, 1929.
- GJRARD (P.) et LOURAU (M.). — Méthode et technique pour l'électrophorèse des liquides organiques. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXVI (25), pp. 1007-10, 1934.
- GIRARD (P.) et LOURAU (M.). — Electrophorèse des sérums agglutinant, hémoly-sant et sensibilisés, électrophorèse de l'alexine. *Ann. de Physiol.*, t. II, pp. 998-99, 1935.
- GIRARD (P.), LOURAU (M.) et PITRES. — Comportement de l'alexine dans le champ électrique. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXIX, pp. 408-10, 1935.
- GIROLAMO (O.). — Comportamento di alcune proprieta dei sieri espositi alla luce solare. *Biochemica e terapia sperimentale*, t. CXIX, p. 64, 1924.
- GOLDIE (H.). — Recherches sur l'alexine et les substances antialexiques du sérum de cheval. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXI, p. 1282, 1936.
- GOLDIE (H.). — Action hémolytique de l'acide silicique. *Ibid.*, t. CXXIX (34), p. 1090, 1938.

- GOLDIE (H.). — Influence de l'acide oléique sur l'activité d'un système hémolytique. *Ibid.*, t. CXXXI (16), pp. 192-96, 1939.
- GOLDNER (M.). — *Deutsch. med. Woch.*, t. LX., p. 390, 1929 (cité par Osborn).
- GOLDNER (M.), HERXHEIMER (H.) und KOST (R.). — *Z. Klin. Med.*, t. CXIII, p. 53, 1930 (cité par Osborn).
- GOLDSCHMIDT (R.) et PRIBAM (E.). — *Zeitschr. f. exper. Path.*, t. VI, p. 211, 1909 (cité par Diacono).
- GOMÈS (L.-S.). — Pesquisas em torno de alguns casos de febra amarella. *Arch. de Hygiene*, t. III, p. 151, 1929, *Rio de Janeiro. Ann. Paulistas. Med. e Cir.*, t. XXI, p. 6, 1930.
- GORDON (J.). — *Jl. Path. Bact.*, t. XXXIII, p. 47 et p. 689, 1930 (cité par Osborn).
- GORDON (J.). — *Jl. of Immun.*, t. XIX, p. 303, 1930 (cité par Osborn).
- GORDON (J.) et CARTER (H.-S.). — *Jl. Path. Bact.*, t. XXXV, p. 549, 1932 (cité par Osborn).
- GORDON (J.) and HOYLE (L.). — *Jl. Hyg. Camb.*, t. XXXIII, p. 411, 1933 (cité par Osborn).
- GORDON (J.) and MARSHALL (P.-G.). — *Brit. Jl. Exp. Path.*, t. X, p. 249, 1929 (cité par Osborn).
- GORDON (J.) and THOMSON (F.-C.). — *Ibid.*, t. XIV, pp. 33 et 277, 1933 (cité par Osborn).
- GORDON (J.) and THOMSON (F.-C.). — *Ibid.*, t. XVI, p. 101, 1935 (cité par Osborn).
- GORDON (J.), WHITEHEAD (H.-R.) and WORMALL (A.). — The action of ammonia on complement. The fourth component. *The Biochem. Jl.*, t. XX, p. 1028, 1926.
- GORDON (J.), WHITEHEAD (H.-R.) and WORMALL (A.). — Calcium and complement action. *Ibid.*, t. XX, p. 1036, 1926.
- GORDON (J.), WHITEHEAD (H.-R.) and WORMALL (A.). — The fourth component of complement and its relation to opsonin. *Ibid.*, t. XX, p. 1044, 1926.
- GORDON (J.), WHITEHEAD (H.-R.) and WORMALL (A.). — *Jl. Path. Bact.*, t. XXIII, p. 730, 1929.
- GORDON (J.) and WORMALL (A.). — The relationship between the bactericidal power of normal guinea pigs and complement activity. *The Jl. of Pathol. and Bacteriol.*, t. XXI, p. 753, 1928.
- GOREESKY (L.) et LUDANY (G.-V.). — Teneur en alexine du sérum contenu dans la rate. *Klin. Woch.* n° 41, p. 1444, 1938.
- GOZONY (L.). — Ueber serologische Unterschiede zwischen mütterlichen und fötalen Blutserum. *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. Exper. Therap.*, t. XIX, p. 172, 1913.
- GRAFF (E.) (von) und ZUBRZYCKI (J. (von)). — Biologischen Studien ueber mütterliches und Nabelschnurblut. *Arch. f. Gynäk.*, t. XCV, p. 732, 1911-12.
- GRAMENITZKI (M.). — Ueber die Regeneration des Komplements (nach Erwartung). *Biochem. Zeitschr.*, t. XXXVIII, p. 501, 1912.
- GREEN (H.-V.). — *Biochem. Jl.*, t. XXVIII, p. 16, 1934.

- GREENNE (M.-R.). — *Americ. Jl. of Hyg.*, t. XVII, p. 60, 1933 (cité par Osborn).
- GRIMBERG (A.), CHAMRAEFF et M^{lle} PELLIER (H.). — Recherches expérimentales sur la conservation du sang par l'héparine. Action comparative de l'héparine et du citrate de soude sur les leucocytes et sur l'alexine. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXXI, n° 49, p. 699, 1939.
- GRIMBERG (A.), MUTERMILCH (S.) et AGASSE-LAFONT (E.). — L'action inhibitrice du citrate de soude sur le pouvoir bactéricide du sang humain. *Ibid.*, t. CXXXIII, p. 1045, 1936.
- GRIMBERG (A.), MUTERMILCH (S.), AGASSE-LAFONT (E.) et M^{lle} PELLIER (H.). — Mécanisme de l'action favorable de la bile sur les hémocultures des germes du groupe Coli-Typhique. *Ibid.*, t. CXXXV, p. 695, 1937.
- GROHMANN (W.) (von). — Effects of Moulds on Clotting of Plasma. *C. Mattiensen. Dorpat.* (cité par Brocq-Rousseu et Roussel).
- GROHMANN (W.) (von). — The influence of cell. free Blood Plasma on vegetable micro-organisms. *C. Kruges Dorpat.* (cité par Brocq-Rousseu et Roussel).
- GROVE (E.-F.). — *Jl. of Immunol.*, t. XVIII, p. 27, 1930 (cité par Osborn).
- GRUBER (M.). — Zur Theorie der Antikörper. I. Ueber die Antitoxin Immunität. II. Ueber Bakteriolyse und Hämolyse. *Münch. med. Woch.*, t. XLVIII, pp. 1827 et 1924, 1901.
- GRUNKE. — Das Eigenkomplement bei rheumatischen Erkrankungen. *Berlin. Klin. Woch.*, p. 578, 15^{me} année, 1936.
- GUGGENHEIMER (H.). — *Zeitschr. Immun.forsch.*, t. XI, p. 393, 1911.
- GUNN (W.-C.). — The variation in the amount of complement in the blood in so ne acute infectious diseases and its relation to the clinical feature. *The Jl. of Path. and Bacteriol.*, t. XIX, p. 155, 1914.
- GURD (F.-B.). — Variations in the complement content of serum and plasma. *The Jl. of inf. diseases.*, t. XI, p. 225, 1912.
- GURWITZ (I.). — *Zeitschr. f. Immun.forsch. u. exper. Therap.*, t. LXXII, p. 169, 1931.
- GUSSEFF (G.-A.). — Versuch einer quantitativen Bestimmung der Alexine im serum von Kranken und gesunden Menschen. *Nuss. med. Rundschau Berlin*, pp. 498, 578, 663, 765, 1903.
- HABER (P.). — Action des ondes courtes sur les propriétés alexiques du sérum de cobayes irradiés; le facteur actif de ces ondes. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXV, pp. 1501-02, 1934.
- HAMMERSCHMIDT (J.). — *Münch. med. Woch.*, n° 48, p. 6, 1922 (cité par Diacono).
- HANSSON (H.). — Ueber Komplement variationen des Blutes gesunder und tuberkulös infizierter Meerschweinchen. *Centralbl. f. Bakt.*, t. CXXXIII, p. 94, 1931.
- HARDE (E.) et THOMSON (A.-E.). — La vitamine C et l'alexine. *C. R. Ac. Sc.*, t. CC, p. 1425, 1935.
- HARTLEY (P.), EAGLETON (H.-J.) and OKELL (C.-C.) — *Jl. of Path. Bact.*, t. XXVI, p. 53, 1923.

- HARTOCH (O.) und YAKIMOFF (W.). — *Biobachtungen ueber Komplementschwund bei experimentellen Trypanosomosen*. *Wim. Klin. Woch.*, t. XXI, p. 1375, 1908.
- HATA (S.). — Ueber die Anwendbarkeit des Rossischen Kolloid Trennungsverfahren zur Konzenkierung der wirksamen Substanzen im Serum. *Centralbl. f. Bakt.*, t. XLVIII, p. 203, 1908.
- HAUROWITZ (F.) et APPEL (G.). — Analyse chimique de la fixation du complément. *Zeitschr. Immunit.*, t. XCV, pp. 200-03, 1939.
- HECHT. — *Zeitschr. Immunit. forsch.*, t. XXXVI, p. 81, 1923 (cité par Gedeon Wells).
- HECK-GROSSMANN (A.). — Recherche sur les relations entre la vitesse de sédimentation globale et le pouvoir alexique du sérum, 1 vol., Vigot éditeur, Paris, 1935.
- HECKER. — *R. Arbeit. a. d. Inst. f. exp. Therap.*, Frankfurt a-m, n° 3, 1907.
- HEGEDUS (A.) et GREINER (H.). — Evaluations quantitatives des composants. *Zeitschr. f. Immunitätsf.*, t. XCII, p. 1, 1938.
- HEKTOEN (L.) and RUEDIGER (G.-F.). — The antilytic action of salt sodium and others substances. *The Jl. of inf. diseases*, t. I, p. 379, 1904.
- HENDERSON-SMITH (J.). — Increase in the complement content of fresh blood serum. *Proceed. of the Roy. Soc.*, t. LXXIX, p. 378, 1907.
- HERMAN. — *Bull. Acad. Méd. Belg.*, t. XVIII, p. 137, 1904.
- HILGERS (W.-E.). — Ernährungszustand und Komplementgehalt bei Meerschweinchen. *Centralbl. f. Bakt.*, t. LXXXIX, p. 217, 1922.
- HILGERS (W.-E.). — Beziehungen swischen Komplementgehalt und Ernährungszustand bei eMerschweinchen. *Zeitschr. f. Imm. u. exper. Therap.*, t. XXXVI, p. 67, 1923.
- HILGERS (W.-E.) und WOHLFEIL (T.). — *Ibid.*, t. XLVII, p. 337, 1926.
- HILGERS (W.-E.) und ZAIN (H.). — Der Komplementgehalt in serum sauer und alkalisch ern Pahrt er Meerschweinchen. *Ibid.*, t. LIX, p. 517, 1928.
- HIRSCHFELD (L.) und KLINGER (R.). — Zur Frage der Cobragiftinaktivierung des Serums. *Biochem. Zeitschr.*, t. LXX, p. 398, 1915.
- HOESS (H.). — *Klin. Woch.* t. X, p. 1538, 1931.
- HOFFMANN (E.). — Experimentelle Untersuchungen ueber die hemmende wirkung inaktivirter Sera. *Zeitschr. f. exper. Path. u. Therap.*, t. IV, p. 704, 1907.
- HORGAN (E.-S.). — Ascorbic acid as a precursor of serum complement. *Nature*, t. CXXXVII, p. 872, 1936.
- HORINO (K.). — *Jl. Biochem. Toyo*, t. IX, p. 407, 1928.
- HOROWITZ-WLASOWA (E.). — Experimentelle beiträge zur frage ueber die Wassermannsche reaktion. *Centralbl. f. Bakt.*, t. XCIV, p. 123, 1925.
- HORSCH (R.). — Unter suchungen ueber die Beeinflussung des Komplementgehaltes des Kaninchenserum durch Injektion von artfremdem serum. *Ach. f. Hygiene*, t. CXVII, p. 33, 1936.

- HUNTERMULLER (O.). — Der Nachweiss der natürlichen Abverkräfte (Alexine) im Blutserum. *Modizinich. Klin.*, t. II, p. 1287, 1930.
- HUNTERMULLER (O.). — Der Einfluss sportlicher Leistungen auf die natürlichen Abwerkeife (Alexine) im Blutserum. *Schweiz med. Woch.*, t. LXI, p. 915, 1931.
- HUNTERMULLER (O.). — *Strahlentherapie*, t. XL, p. 743, 1931.
- HYDE (R.-R.). — Complement deficient guinea pig serum. *The Jl. of Immun.*, t. VIII, p. 267, 1923.
- HYDE (R.-R.). — The activation of complement deficient guinea pig serum with heated sera. *The Americ. Jl. of Hyg.*, t. IV, p. 62, 1924.
- HYDE (R.-R.). — Complement deficient guinea pig serum and super sensibilized corpusculs. *Ibid.*, p. 65, 1924.
- HYDE (R.-R.). — The activation of yeast adsorbed complement with heated sera. *Ibid.*, t. V, p. 145, 1925.
- HYDE (R.-R.). — The complementing properties of blood plasma. *Ibid.*, t. VIII, p. 859, 1928 ; *Ibid.*, t. XV, p. 824, 1932.
- ILLENYI (A .) et LUDANY (G.). — Action de l'excitation directe du nerf splanchnique ou du nerf pneumogastrique sur l'alexine. *Zeitschr. Immunitätsf.*, t. XCIV, p. 321, 1938.
- INGLESSI. — Pouvoir complémentaire dans la scarlatine. *Pediatrics*, t. L (19), p. 1045, 1932.
- JACOBY (M.). — Ueber die Abhängigkeit der Komplementzrstörung von der Anwesenheit der Säuerstoffe. *Biochem. Zeitschr.*, t. LXIX, p. 127, 1915.
- JACOBY (M.) und SCUTZE (A.). — Ueber die Inaktivierung der Komplement durch Schütteln. *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. exper. Therap.*, t. IV, p. 730, 1904.
- JAME et JUDE. — Variations *in vitro* de l'alexine de cobaye sous l'influence de certaines conditions météorologiques. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXII, pp. 1267-78, 1936.
- JAME et JUDE. — Variations *in vivo* du pouvoi ralexique du sérum de cobaye. *Ibid.*, pp. 1268-69, 1936.
- JEANNENEY, CASTANET et CASTOR. — Nouvelle méthode de mesure du pouvoir hémobactéricide; ses applications pratiques. *Presse Médic.*, n° 70, pp. 1305-08, 31 août 1938.
- JOBBLING (J.-W) and BULL (G.-G.). — *Jl. Exper. Med.*, t. XVI, p. 483, 1913.
- JOBBLING (J.-W.) and BULL (G.-G.). — *Trans. Chicag. Path. Soc.*, t. IX, p. 483, 1913.
- JOKL (E.). — *Klin. Woch.*, t. XI, p. 417, 1932.
- JONAS (W.). — Ueber die Wirkung verschiedner Serummarten auf das durch cobragift inaktivierte Komplement. *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. exper. Therap.*, t. XVII, p. 539, 1913.
- JONNARD (R.). — Etude interférométrique sur la réaction de fixation du complément. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXXI, n°18, pp. 596-600, 1939.

- JOUAN (C.) et STAUB (A.). — Présence d'alexine hémolitique et bactéricide dans le plasma des oiseaux. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLI, p. 452, 1910.
- JUNG (R.-E.) and DAY (A.-A.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.*, t. XXVIII.
- JUNGBLUT (C.-W.) and BERLOT (J.-A.). — *Jl. Exper. Med.*, t. XLIII, pp. 613-797, 1926.
- KANDIBA (L.) et DAWYDOWA (E.). — Influence de l'intoxication par l'oxyde de carbone sur l'immunité. *C. R. Soc. Biol.*, t. C, p. 788, 1929.
- KELLET (C.-E.) et CREIG-THOMSON (J.). — Le pouvoir complémentaire au cours des néphrites. *Jl. Path. and Bact.*, t. XLVIII, p. 519, mai 1939.
- KENTZLER (J.). — Der Komplementgehalt des Blutes bei verschiedenen Formen der Lungentuberkulose. *Berlin. Klin. Woch.*, 42^{me} année, p. 284, 1905.
- KIAMIL (S.) et RASSIM (A.). — Action de la chaleur sur les matières protéiques du sérum sanguin. *C. R. Soc. Biol.*, t. XCVIII, p. 1419, 1928.
- KISS (J.). — Alexin und antialexin. Iena, 1924.
- KISS (J.). — Zur physikalischen Chemie der Alexinbindungsreaktionen. *Biochem. Zeitschr.*, t. CXXIX, p. 487, 1922.
- KLOPSOCK (A.). — Komplexe Konstitution des Komplements und Kolloidechemische struktur des serumeiweisz. *Deutsch. Med. Woch.*, t. L, p. 1171, 1924.
- KOCH (M.-L.) and SMITH (A.-H.). — The variation of complement of guinea pig during scurvy. *Proceed. of the Soc. for exper. Biol. and Med.*, t. XXI, p. 366, 1924.
- KOKAWA (H.). — Ueber die Trypanolyse und ihren Mechanismus. *Fukuoka Acta Medica*, t. XXI, p. 1, 1928.
- KOLF (H.) und NOEGGERATH (C.-T.). — *Jahrb. f. Kinderhllk.*, t. LXX, p. 701, 1909 (cité par Diacono).
- KOLMER (J.-A.). — A practical text book of infection, immunity and specific therapy with special reference to immunology technic. *Phil. and London*, 1915, *W. B. Saunders*, 1 vol., 908 p.
- KOLMER (J.-A.), MATSUNAMI (T.) and TRIST (M.-E.). — *Americ. Jl. of Syphil.*, t. III, p. 407, 1919 (cité par Osborn).
- KOLMER (J.-A.), TOYAMA (I.) and MATSUNAMI (T.). — *Jl. of Immun.*, t. III, p. 157, 1918 (cité par Osborn).
- KONIGSFELD (H.). — *Klin. Woch.*, n° 35, 1923 (cité par Diacono).
- KRAULIS (W.). — Ueber Veränderungen des Komplements bei progressive Paralyse und seine Reaktivierung. *Ibid.*, t. XV, p. 1065, 1936.
- KRAUSS (F.) and FUCHS (H.-J.). — *Zeitschr. exp Med.*, t. LXIV, p. 583, 1929.
- KUJUMGIEFF (I.). — Ricerche sull'applicazione del ascesso di fissazione agli scopi di un aumento del titolo alessini co del siero di cavia. *Giorn. Batt. e Immun.*, t. XIII, p. 50, 1935.
- KYES (P.) und SACHS. — *Berl. Klin. Woch.*, t. IV, 1903 (cité par Diacono).
- KYES (P.) and STAUSER (E.-R.). — *Jl. of Immunol.*, t. XII, p. 419, 1926 (cité par Osborn).

- LA GRUTTA (L.). — Il comportamento del potere complementare del siero di sangue nell'acidose sperimentale. *Ann. di Clin. med. e di med. sper.*, 18^{me} année, p. 49, 1928.
- LAMBOTTE (V.). — Contribution à l'étude de l'origine de l'alexine bactéricide. *Centralbl. f. Bakt., Or.*, t. XXXIV, p. 453, 1903.
- LAMBOTTE (V.) et STIENON. — Alexine et leucocytes. *Ibid.*, t. XL, pp. 224, 393, 503, 1906.
- LAMPL (H.) und LANDSTEINER. — Quantitative Untersuchungen ueber Einwirkung von Komplement auf Precipitate. *Zeitsch. f. Imm.forsch. u. exper. Therap.*, t. XXVI, p. 193, 1917.
- LANDSBERGER (J.). — *Ibid.*, t. LXV, p. 385, 1930 (cité par Osborn).
- LANDSTEINER (K.) und JAGIE (N.). — *Wien. Klin. Woch.*, t. XVII, p. 63, 1904 (cité par Osborn).
- LANDSTEINER (K.) und ROCK (A.). — *Zeitschr. f. Imm.forsch. u. exper. Therap.*, t. XIV, p. 14, 1913.
- LANDSTEINER (K.) und STANKOVIC (R.). — *Centralbl. f. Bakt.*, t. XLI, p. 108, 1906 (cité par Osborn).
- LAZAR (E.). — Ueber hämolytische Wirkungen der Froschserums. *Wien. Klin. Woch.*, t. XVII, p. 1057, 1904.
- LECOMTE DU NOUY (P.). — Etudes sur la viscosité du sérum sanguin en fonction de la température et sur l'hydratation de ses protéines. *Ann. Inst. Past.*, t. XLII, p. 742, 1928.
- LECOMTE DU NOUY (P.). — Etudes sur le pouvoir rotatoire et la dispersion rotatoire du sérum en fonction du temps et de la température. *Ibid.*, t. XLIII, p. 749, 1929.
- LECOMTE DU NOUY (P.). — Recherches sur la température critique du sérum 55°-58° au moyen des mesures photométriques (3^{me} mémoire). *Ibid.*, t. XLIV, p. 109, 1930.
- LECOMTE DU NOUY (P.). — Recherches sur la température critique du sérum. Mesure du facteur de dépolarisation. Mécanisme de la coagulation par la chaleur (4^{me} mémoire). *Ibid.*, t. XLV, p. 251, 1930.
- LECOMTE DU NOUY (P.). — La sérologie à la lumière des données nouvelles sur les propriétés physico-chimiques des sérums. *Ann. des Mal. Vénériennes*, 28^{me} année, n° 3, p. 125, mars 1933.
- LEDINGHAM and DEAN. — *Jl. of Hyg. Cambr.*, t. XII, p. 152, 1912.
- LEGRAND (P.). — Flocculation et dispersion des hydrosols colloïdaux par les sérums sanguins. *Bull. des Biol. Pharm.*, n° 31, 1935.
- LEGRAND (P.). — Relation entre le pouvoir complémentaire et le pouvoir disperser. *Ibid.*, n° 32, p. 101, 1936.
- LEVADITI (C.). — Les bactériolysines leucocytaires dans leurs rapports avec l'alexine. *Bull. Inst. Past.*, t. XII, pp. 481, 529, 577, 1914.
- LEVADITI (C.) et NICOLAU (S.). — Fixation des ultra-virus neurotorpes à travers les membranes en collodion. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXVI, p. 717, 1923.

- LEVINE (B.-S.). — *Ame. Med.*, t. XXV, p. 610, 1929 (cité par Osborn).
- LIEBERMANN (L.) (von). — Ueber Kunstliches Komplement, *Deutsch Med. Woch.*, 47^{me} année, p. 1283, 1921.
- LIEBERMANN (L.) (von) und FENIVESSY (B.) (von). — Ueber die Wirkung der Verdünnung auf natürliches und Kunstliches Normal und Immunerums. *Biochem. Zeitschr.*, t. V, p. 99, 1907.
- LIEBERMANN (L.) (von) und FENIVESSY (B.) (von). — Bemerkungen zu der Abhandlung von Liefmann, Cohn und Orloff: Ueber die hypothese der lipoïden Natur des Komplements, *Zeitschr. f. Imm.forsch. u. exper. Therap.*, t. XIII, p. 695, 1912.
- LIEBERS (M.). — *Arch. Hyg. Berl.*, t. LXXX, pp. 29-43, 1913 (cité par Osborn).
- LIEFMANN (H.) und COHN (M.). — Die Einwirkung verschiedener Chemikalien, insbesondere des Cholesterine, auf die zwei Teile des Komplements. *Zeitschr. f. Imm.forsch. u. exper. Therap.* t. VI, p. 562, 1910.
- LIEFMANN (H.), COHN (M.) und ORLOFF. — Ueber die Hypothese der lipoïden Natur des Komplements. *Ibid.*, t. XIII, p. 150, 1912.
- LINGELSHEIM (L.-V.). — *Zeitschr. f. Hyg.*, t. XLII, p. 308, 1903 (cité par Diacono).
- LIPKIN (J.-I.). — *Giorn. Batt. Imm.*, t. VI, p. 433, 1941 (cité par Scartozzi et Osborn).
- LIPPMANN. — *Zeitschr. Immun.forsch. u. exper. Therap.*, t. XXIV, p. 104, 1915 (cité par Diacono).
- LISSAUER (M.). — Untersuchungen ueber die Hämolytischen Eigenschaften des Blutserums abgekühlter und erwärmter Iere. *Arch. f. Hygiene*, t. LXIII, p. 331, 1907.
- LITCHWITZ (L.). — *Münch. Med. Woch.*, n° 36, 1904 (cité par Diacono).
- LONGCOPE (W.-T.). — *J. Hyg. Camb.*, t. III, p. 28, 1903 (cité par Osborn).
- LOW (R.-C.). — Anaphylaxis and sensibilization p H. Green and Son Edit., Edimburgh, 1924.
- LUCHS (Erich). — Inhibition de l'alexine par les métaux colloïdaux. *Zeitschr. Immunitätsf.*, t. XCV, p. 70, 1939.
- LUDKE (H.). — Zur Kenntnis der Komplemente. *Verh. d. Physik med. Ges. Würzburg*, t. XXXIX, p. 131, 1908.
- LUDKE (H.). — Ueber die Bedeutung der temperatursteigerung für die Antikörperproduktion. *Deutsch Arch. f. Klin. Med.*, t. XCV, p. 425, 1909.
- LUMIÈRE (A.) et COUTURIER (H.). — Influences des pressions élevées sur les propriétés hémolytiques des sérums. *C. R. Soc. Biol.*, t. XCVI, p. 45, 1927.
- LUMIÈRE (A.) et M^{me} GRANGE. — Pouvoir alexique des sangs veineux et artériel. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXXXVI, p. 1654, 1928.
- LUNDBERG (E.-G.). — Sur la photolabilité du complément. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 758, 1921.
- LUNDBERG (E.-G.). — On the photolability of serum complement. *The Jl. of Imm.*, t. VII, p. 389, 1922.

- LUSENA. — *Lo Sperimentale*, t. LXXXIII, p. 561, 1929 (cité par Scartozzi).
- LUSENA. — *Minerv. Med.*, vol. 1, p. 453, 1933 (cité par Scartozzi).
- MACHEBŒUF (M.). — L'immunité du point de vue biochimique. *Gaz. Hebd. Sc. méd. de Bordeaux*, 59^{me} année, n° 47 et n° 48, 20 et 27 novembre 1938.
- MACHEBŒUF (M.) et TAYEAU (F.). — Libération des lipides de certaines cénapses lipidoprotéïdiques du sérum sanguin par divers savons. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXXIX, pp. 1181-84, 1938.
- MACHEBŒUF (M.) et TAYEAU (F.). — Méthode permettant de délipider, sans les dénaturer, les globulines du sérum sanguin. Application à l'étude du rôle des lipides dans le fractionnement des globulines en euglobulines et pseudo-globulines. *Ibid.*, pp. 1184-86, 1938.
- MACHEBŒUF (M.), TAYEAU (F.) et BATTUT (V.). — Comparaison de diverses techniques de séparation et de dosage des globulines et de leurs fractions dans le sérum sanguin. Considération sur les termes de: Globulines, Euglobulines, Pseudo-globulines. *Ibid.*, t. CXXX (5), p. 481, 1939.
- MAC KENZIE (I.) and MARTIN (W.-B.). — Serumtherapy in cerebro spinal fever. *The Jl. of Path. and Bacter.*, t. XII, p. 434, 1908.
- MAC KENZIE (R.-D.) and MARSHALL (R.-S.). — *Ibid.*, t. XXXV, p. 175, 1932 (cité par Osborn).
- MACKIE (T.-J.) and FINKELSTEIN (M.-H.). — *Jl. Hyg. Camb.*, t. XXX, p. 1, 1930, et t. XXXI, p. 35, 1931 (cité par Osborn).
- MADSEN (T.). — Fest hrift ved Indvielso af statens. *Serum Institut. Copenhagen*, 1902, 1 vol. (cité par Brocq-Rousseu et Roussel).
- MAGHERU (Georges et Alice). — 1° Apparition chez le cobaye de grandes quantités d'alexine dans les exsudats péritonéaux provoqués par l'injection de toxines;
2° Fixation de l'alexine, *in vivo*, sur le complexe toxine-antitoxine. *C. R. Soc. Biol.*, t. CI, pp. 204-08, 1929.
- MAGROU (J.). — Contribution à l'étude de l'immunité humorale chez les plantes. *Ann. Inst. Pasteur*, t. LX (n°6), pp. 565-600.
- MAIGNON (F.). — La fonction alexique, moyen de défense contre l'adultération protidique du sang. *Ann. de Physiol. et de Physiochimie biologique*, t. XV, n° 4, 1939.
- MAIGNON (F.) et THIERY (J.-P.). — *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXXI, p. 246 et p. 249, 1939.
- MALTANER (E.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. New-York*, t. XXXII, p. 1555, 1935.
- MANWARING (W.-H.). — On the destruction of complement by heat. *Trans. of the Chicago Path. Soc.*, t. VI, p. 425, 1906.
- MANWARING (W.-H.). — On the so called complementoid of haemolytic serum. *Centralbl. f. Bakt.*, t. XLI, p. 455, 1906.
- MANWARING (W.-H.). — On the thermolability of complement. *Ibid.*, t. XLI, p. 826, 1906.
- MANWARING (W.-H.), HOSEPIAN (V.-M.), ENRIGHT (J.-R.) and PORTER (D.-F.). — *Jl. of Immun.*, t. X, p. 567, 1925.

- MARBÉ (S.). — *C. R. Soc. Biol.*, t. LXVIII, pp 44, 293, 362, 1909 et t. LXIX, p. 462, 1910.
- MARSH (F.). — Ascorbic acid as a precursor of serum complement. *Natur.*, t. CXXXVII, p. 618, 1936.
- MASSOL (L.) et GRYSEZ (V.). — Sur les variations du pouvoir alexique du sérum frais de cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXVIII, p. 588, 1910.
- MASSOL (L.) et GRYSEZ (V.). — Influence du vieillissement et de la dessiccation sur la conservation de l'alexine du sérum de cobaye. *Ibid.*, p. 825, 1910.
- MASSOL (L.) et MÉZIE (A.). — Fixation des deux composants de l'alexine du sérum de cobaye, chaînons moyen et terminal, dans la déviation du complément par le complexe antigène-anticorps tuberculeux. *Ibid.*, t. LXXII, pp. 658-60, 1912.
- MASSOL (L.) et NOWACZYNSKI (J.). — Conservation et filtration de l'alexine du sérum de cobaye. *Ibid.*, t. LXIX, p. 430, 1910.
- DE MATTIA (R.). — Comportamento del potere complementare del sangue nelle scarlatina. *Boll. Soc. Ital. Microbiol.*, t. XIII, p. 64, 1941.
- MATZUNAMI (T.) and KOLMER (J.-A.). — The influence of active normal serum (complement) upon meningococcus. II. The bactericidal and protective value of fresh normal serum alone and in combination with antimeningitis serum for meningococci. *Jl. of Immun.*, t. III, p. 177, 1918.
- MAUGERI (S.). — Weitere Beiträge zum Immunologischen Verhalten des Normalserums. Zur Entstehung des Komplements und des Normalambozeptors gegen Hammelblutkörperchen bei Menschen, beim Schwein und bei der Ratte. *Zeitschr. f. Imm. Forsch. u. Exper. Therap.*, t. LXXIV, p. 473, 1932.
- MAZZEO (M.). — *Rass. Intern. di Clin. e Ter.*, t. XIII, p. 671, 1932 (cité par Scartozzi).
- MEERSSEMAN (F.). — Le titrage du pouvoir alexique des sérums humains. Technique personnelle. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXIV, pp. 767-70, 1937.
- MEERSSEMAN (F.) et PERROT (H.). — Le pouvoir alexique des sérums à l'état normal et pathologique. *Ibid.*, t. CXXIV, p. 770, 1937.
- MEERSSEMAN (F.) et PERROT (H.). — Le pouvoir alexique des sérums à l'état normal et pathologique. *Revue d'Immunologie*, t. III, p. 354, 1937.
- MERLINI (A.). — *Giorn. Batt. e Immun.*, t. IV, p. 522, 1929 (cité par Osborn).
- MÉTALNIKOFF (S.). — Ueber haemolytisches Serum durch Blutfluttermung. *Centr. f. Bakt.*, t. XXIX, p. 531, 1901.
- METCHNIKOFF (E.). — Sur la destruction extracellulaire des bactéries dans l'organisme. *Ann. Inst. Past.*, t. IX, p. 434, 1895.
- MICHAELIS (L.) et SKWIRSKY. — *Zeitschr. f. Immun. Forsch. u. exper. Therap.*, t. VII, p. 497, 1910 (cité par Osborn).
- MIDANA (A.) e DE GAUDENZI (C.). — Complemento e Malattia di Nicolas Favre. *Giorn. Ital. Dermat. e Sifil.*, t. LXXX, p. 1119, déc. 1939.
- MISAWA (T.). — Ueber einige Eigenschaften der thermostabilen Komponenten des Komplements. *Zeitschr. f. Imm. Forsch. u. exper. Therap.*, t. LXXVII, p. 477, 1932.

- MISAWA (T.). — Zur Frage des Verhalten der sogenannten Komponentes des Komplements bei der Komplementbildung. *Ibid.*, t. LXXXIII, p. 130, 1934.
- MISAWA (T.). — Ueber den gehalt verschiedener Serumarten an thermostabilen Komponenton des Komplements. *Ibid.*, t. LXXXIII, p. 177, 1934.
- MISE (S.). — *Fukuoka Acta Med. (Fukuoka Igwadaigaku - Zasshi)*, t. XXII, pp. 46-47-65 (cité par Osborn).
- MOREL (C.). — De l'influence de l'alexine sur le pouvoir déflocculant du sérum sanguin. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXII, p. 254, 1936.
- MOREL (C.). — Présence d'alexine libre dans certains précipités spécifiques. *Ibid.*, t. CXXVIII (15), 1938.
- MORGENROTH (J.). — Collected studies on immunity... and by his collaborators. *Transl. by C. Bolduan New-York, J. Wiley and Son*, 1 vol., 597 p., 1906.
- MORGENROTH (J.) and KAYA (R.). — Ueber eine Komplementzerstörende Wirkung des Kobragiftes. *Biochem. Zeitschr.*, t. VIII, p. 378, 1908.
- MORGENROTH (J.) und SACHS (H.). — Ueber die quantitative Beziehungen von Amboceptor, Komplement und Antikomplement. *Berlin. Klin. Woch.*, p. 817, 1902.
- MORRISON (L.-F.). (University Berkeley, California). — On the origin and nature of alexin (complement) in guinea pig blood. *The Jl. of Immun.*, t. VII, p. 435, 1922.
- MOUSSERON (M.) et HUC (H.). — Sur les modifications des complexes lipoalbuminiques et lipoglobuliniques au cours du vieillissement du sérum sanguin. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXXII (23) pp. 151-52, 1939.
- MUGGIA. — *Giorn. Batt. e Immun.*, t. I, p. 1, 1926 (cité par Scartozzi).
- MUIR (R.) and BROWNING (C.-H.). — On the bactericidal action of normal serum. *The Jl. of Pathol. and Bacteriol.*, t. XIII, p. 76, 1908.
- MUIR (R.) and BROWNING (C.-H.). — On the filtration of serum complement. *Ibid.*, t. XIII, p. 232, 1909.
- MÜLLER (L.). — Recherche sur le lieu et le mode d'origine des cytolysines naturelles (alexines et ambocepteurs normaux) et les moyens d'en provoquer l'hypersécrétion. *Centralbl. f. Bakt.*, t. LVII, p. 577, 1910.
- MÜLLER (R.). — Ueber die Wirkung von Druck auf Immunkörper und Immunreaktionen. *Wein. Klin. Woch.*, t. XXX, p. 841, 1917.
- MUSSELMAN (L.-K.). — Natural immunity in the newborn. *Americ. Jl. of Obstetric*, t. VIII, pp. 45-441, 1924.
- MUTERMILCH (S.). — Sur la dissociation de l'alexine dans les sérums inactivés par la chaleur. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXX, p. 577, 1911.
- MUTERMILCH (S.). — Sur la dissociation de l'alexine dans les vieux sérums inactivés. *Ibid.*, t. LXXI, p. 605, 1911.
- MUTERMILCH (S.). — Les relations entre l'alexine et les ferments. *Ibid.*, t. LXXXIII, p. 723, 1913.
- MUTSAARS (W.). — Action du saccharose sur la thermorésistance de l'alexine. *Ibid.*, t. CXXI, p. 895, 1936.

- MUTSAARS (W.) et ROBERT (J.). — Action du saccharose sur l'alexine à haute et basse température. *Ibid.*, t. CXXI, p. 1400, 1936.
- NACCARI (A.). — Ricerche sperimentali sul comportamento dei globuli bianchi, del p. c. ed opsonico del sangue sotto l'influenza della vitamino C. *Giorn. Batt. e Immun.*, t. XX (5), p. 1042, 1938.
- NADEJDE (G.). — La diminution de l'alexine dans le sérum de cobaye anaphylactisé pour le sérum de cheval et des cobayes vaccinés contre ce sérum. Conservation du pouvoir opsonique (opsonine normale). *C. R. Soc. Biol.*, t. LXX, p. 288, 1911.
- NAGELSCHMIDT (F.). — *Senatorfestschrift Berlin*, 1906 (cité par Diacono).
- NASTASI (A.). — *Boll. Ist. Sier. Mil.*, t. XII, p. 287, 1933.
- NATHAN (E.). — Ueber die Beziehungen der Komponenten des Komplements zu den amboceptorbeladen. *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. exper. Therap.*, t. XXI, p. 259, 1914.
- NATHAN (E.). — Ueber den Einfluss verschiedener Serumarten auf die Inaktivierbarkeit des Meerschweinchenkomplement durch Cobragift. *Ibid.*, t. XXV, p. 301, 1916.
- NATHAN (E.). — Experimentale untersuchungen ueber das Wesen des Wassermann aktion. *Ibid.*, t. XXVII, p. 301, 1918.
- NATOLI (Aldo). — Point isoélectrique et complément humain. *Ann. Igiene*, t. XLVIII, pp. 296-300, 1938.
- NATTAN-LARRIER (L.) et GRIMARD (L.). — Action du vieillissement sur l'alexine du sérum humain. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXV, p. 512, 1937.
- NATTAN-LARRIER (L.), GRIMARD (L.) et DUFOUR. — L'alexine chez le nouveau-né. *Ibid.*, t. CXXV, p. 358, 1937.
- NATTAN-LARRIER (L.), LÉPINE et J. MAY (M^{lle}). — Dosage comparatif de l'alexine dans le sang de la mère et dans le sang de l'enfant au moment de la naissance. *Ibid.*, t. XCVII, p. 671, 1927.
- NATTAN-LARRIER (L.) et RICHARD (L.). — Le passage du complexe sérum antitoxine ne modifie pas la perméabilité placentaire au point de vue alexine. *Ibid.*, t. CIV, p. 379, 1930.
- NATTAN-LARRIER (L.) et RICHARD (L.). — Action du tissu placentaire sur l'alexine. *Ibid.*, t. CIV, p. 944, 1930.
- NEISSER (M.). — Ueber die Vielheit der im normalen serum vorkommenden Antikörper. *Deutsch. Med. Woch.*, 26^{me} année, p. 700, 1900.
- NEISSER (M.) et WECHSBERG (F.). — *Munch. Med. Woch.*, t. XLVIII, p. 697, 1901 (cité par Osborn).
- NESTORESCU (N.). — Recherches expérimentales sur le titre alexique du sérum de chien sous l'influence de l'abcès de fixation. *C. R. Soc. Biol.*, t. CII, p. 120, 1929.
- NETER (E.). — *Zeitschr. f. Immun. forsch. u. exper. Therap.*, t. LXXII, p. 136, 1931 (cité par Osborn).
- NETOUSEK (M.) et PESEK (J.). — Dosage de l'alexine dans le sérum humain. *C. R. Soc. française d'hématologie, séance du 5 juin 1935*; in « *Le Sang* », n° 7, p. 735, 1935.

- NEUBER (F.). — Beeinfluss die quecksilberhandlung die Schutzstoffe des organis-
mes. *Arch. f. Dermat. u. Syph.*, t. CV, pp. 99-431, 1910.
- NEUBERG (C.) und REICHER (K.). — *Münch. Med. Woch.*, n° 12, 1912 (cité par
Diacono).
- NEUFELD (F.) und HÜHNE. — *Arb. Gesundhamt. Berl.*, t. XXV, p. 164 (cité par
Osborn).
- NEUMANN (R.-O.). — *Centralbl. f. Bakt.*, t. XLIV, p. 46, 1907 (cité par Osborn).
- NICOLLE (M.) et BOQUET (A.). — *Eléments de microbiologie générale et d'immuno-
logie*. 1 vol., Masson éditeur, Paris, 1926.
- NICOLLE (M.), JOUAN (C.) et DEBAINS (E.). — Recherches sur l'action bactéricide
de divers sérums antimicrobiens. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XXXIII, p. 318,
1919.
- NIGRISOLI (P.). — *Giorn. Batt. e Immun.*, t. II, p. 603, 1927.
- NOC (F.). — Sur quelques propriétés hémolytiques des différents venins de ser-
pents. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XXVIII, p. 336 1904.
- NOGUCHI (H.). — On the heat lability of the complements of coldblooded animals.
Jl. of Med. Research, t. IX, p. 169, 1903.
- NOGUCHI (H.). — The multiplicity of the haemagglutinins and the heat lability of
the complements of coldblooded animals. *Univ. of Penna. Bull.*, t. XVI,
p. 193, 1903.
- NOGUCHI (H.). — *Biochem. Zeitschr.*, t. VI, pp. 172-327, 1907.
- NOGUCHI (H.) and BRONFENBRENNER (J.). — Effects of Mechanical agitation and
of temperature upon complement. *The Jl. of experim. Medicine*, t. XIII,
p. 229, 1911.
- NOL. — *Bull. Acad. Roy. de Belgique*, p. 748, 1908 (cité par Diacono).
- NORTHROP (J.-H.) and KUNITZ (M.). — *J. Gen. of Physiol.*, t. VIII, p. 317, 1925
(cité par Osborn).
- NORTON (J.), BARFIELD BLAKE (B.) and FALK (I.-S.). — The degeneration of com-
plement on storage at several temperatures. *The Jl. of inf. dis.*, t. XLI,
p. 39, 1927.
- NUNNO (R.) (de). — *Morgagni*, t. LXXIII, p. 165-7, 1931.
- NUTTAL. — 1888 (cité par divers auteurs : Bordet, Brocq-Rousseau, Osborn).
- NUZZI (P.). — *Morgagni*, t. LXXIII, p. 547, 1931.
- OHKUBO (S.). — L'alexine dans le choc anaphylactique mortel, dans le choc du
type anaphylactique et, après la mort par asphyxie. *Jl. Chosen Med. Ass.*
t. XXIX, p. 6 et p. 180, 1939.
- OHTSUKA (S.), TERAOKA (H.) and SUGIYAMA (K.). — *Okayama Igakai Zasshi*, t. XLIV,
pp. 2-462 (cité par Osborn).
- OKADA (T.). — *Sci. I. Kwai. Med. Jl.*, t. XLVIII, p. 5, 1929 (cité par Osborn).
- OLITZKI (L.). — Verhalten des Komplementes und seiner einzelnen Komponen-
ten bei unspezifischen adsorption und elution. *Zeitschr. f. Immun.
forsch. u. exper. Therap.*, t. LXXIX, p. 347, 1933.

- OLSEN (O.) und GÖTTE (K.). — Ueber serumhämolyse und lipolyse. *Biochem. Zeitschr.*, t. CLXII, pp. 188-202, 1920.
- OMOROKOW (L.). — Ueber die Wirkung des Kobragiftes auf die Komplemente. *Zeitschr. f. Immun.forsch. u. exper. Therap.*, t. X, p. 285, 1911.
- ORNU (O.) et PIPARELLI (E.). — Sulla conduttività elettrica del siero. *Arch. di Sc. Biol.*, t. XXIV (2), pp. 97-119, 1938.
- OSBORN (T.-W.-B.). — « Complement or alexin ». *University of the Witwatersrand Johannesburg, Oxford University Press, London, Humphrey Mitford Editor*, 1937. 1 vol., 116 pages.
- OTTOLENGHI (O.) und MORI (M.). — *Centralbl. f. Bakt.*, t. XXXVIII, p. 338, 1905 (cité par Diacono, Osborn, Scartozzi).
- PAILLOT. — L'immunité humorale chez les insectes. Etude d'un cas d'immunité humorale. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXIX, p. 1122, 1919.
- PALLE HJORTH. — Lysine X. *Zeitschr. Immunitätsf.*, t. XVC, pp. 360-504, 8 juin 1939.
- PALMIERI (V.-M.). — *Giorn. Batt. e Imm.*, t. I, p. 1, 1926 (cité par Scartozzi).
- PANDIT (C.-G.). — *Jl. of Hyg. Camb.*, t. XXI, p. 406.
- PARSONS (E.-J.) (Miss). — *Jl. of Immunol.*, t. XII, p. 47, 1926.
- PATERNO (P.) et d'ARRIGO (C.). — Action du Polyacétyleène dioxysulfonate de soude sur le sang. *Arch. Ital. Med. sper.*, t. IV, pp. 239-48, 1939.
- PATRONE (È.). Formola leucocitaria e valore complementare nel decorso delle malattie infettive chirurgiche. *Rinnov. Medico*, t. VI, n° 3, 1929.
- PAUL (B.) and PÉLY (M.). — *Klin. Woch.*, t. XIV, p. 163, 1935.
- PERCORELLA (F.). — Influenza della vitamina B₂ sul potere complementare. *Boll. I. S. M.*, t. XVIII, pp. 211-17, 1939.
- PERCORELLA (F.). — Influenza dell'acido nicotinico sul potere complementare del siero di sangue. *Ibid.*, n° 67, p. 282, 1940.
- PETTERSON (A.). — Les bactériolysines et l'immunité contre les microbes influencés par elle. *Revue d'Immunologie*, t. II, p. 288, 1936.
- PFEIFFER. — 1892. Cité par de nombreux auteurs.
- PFAUNDLER (M.) und MORO (E.). — *Zeitschr. f. exper. path. u. Therap.*, t. IV, 1907.
- PFAUNDLER (M.) und MORO (E.). — *Münch. Med. Woch.*, n° 20, 1908.
- PICK (E.-P.) und PRIBAM (E.). — Beiträge zur Kenntnis ätherempfindlicher und äterlöslicher Substanzen des Blutserums und ihre Einfluss auf die einige Immunitäts Reaktionen. *Biochem. Zeitschr.*, t. XI, p. 418, 1908.
- PIERRET (R.) et BRETON (A.). — I. Sur la valeur du pouvoir alexique des sérums de tuberculeux. II. Action du vieillissement à la glacière sur le pouvoir alexique des sérums de tuberculeux. *C. R. Soc. Biol.*, t. XCIV, pp. 669 et 701, 1926.
- PIETTRE (M.) et CHRÉTIEN (A.). — *Revue de Path. comp.*, t. XXVII, p. 505, 1927.
- PINNER (M.). — Beeinflussung des Komplements durch Gifte. *Beit. z. Klin. d. Tüberk.*, t. XLVI, p. 471, 1921.

- PLANT (A.-S.). — *Bait. Med. Jl.*, I, p. 414, 1933.
- PONDER (E.). — « The Mammalian Red Cell and properties of haemolytic systems ». *Protoplasma Monographien Series*, Vol. 6, Gebrüder Borntraeger Berlin, 1934.
- PONDER (E.) and YEAGER (J.-F.). — *Proc. Roy. Soc B.*, t. CVI, p. 506, 1930 (cité par Osborn).
- QUICK (A.-J.). — On the relationship between complement and Prothrombin. *The Jl. of Immunol.*, t. XXIX, p. 87, 1935.
- RAADT (L.-E.) (de). — Die Komplementogene Wirkung von Chinin in Zusammenhange mit dem Entstehen des Scharzwasserfieberanfalles. *Arch. f. Sch. u. Tropenhyg.*, t. XXI, p. 149, 1917.
- RACHMILWITZ (M.) and SILBERSTEIN (W.). — The amount of complement in the blood in rheumatic fever and rheumatoid arthritis. *Jl. Labor. clin Med.*, t. LXXII, p. 1240, 1937.
- RAHMY. — *Jl. Amer. Med. Assoc.*, t. LXIX, p. 973, 1917 (cité par Diacono)
- RAMSDEN (W.). — *Zeitschr. Phys. Chem.*, t. XLVII, p. 336, 1904 (cité par Schmidt et Osborn).
- RANQUE (A.). — Réactions du liquide céphalo-rachidien au cours de la pachyméningite pottique. Valeur diagnostique et pronostique. Thèse Paris, 1911.
- RANQUE (A.) et SÉNEZ (C.). — Hémoculture rapide par ensemencement de sang désalexiné. *C.R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, p. 799, 1921.
- RANQUE (A.), SÉNEZ (C.) et VAYSSIÈRE (E.). — Réaction de Wassermann positive avec sérum d'animaux. *Ibid.*, t. LXXII, pp. 1105-06, 1912.
- RANQUE (J.). — Activité alexique du plasma citraté. *C.R. Soc. Biol.*, t. CXXXIV, p. 131, avril 1940.
- RANQUE (J.). — I. Essais de divers milieux citratés pour la conservation de l'alexine dans le plasma humain. II. Utilisation de l'alexine du plasma humain conservé par citratation dans les réactions de déviation du complément et en particulier dans la réaction de Bordet-Wassermann. *Soc. Biol. Marseille*, 7 avril 1942.
- RAUCH (G.). — Ueber den Einfluss verschiedener Reize auf den Komplement titer bei Kaninchen. *Centralbl. f. Bakt.*, t. XCVIII, p. 9, 1936.
- REHNS (S.). — Contribution à l'étude de l'immunité acquise. Recherches sur l'agglutination du bacille typhique. *C. R. Soc. Biol.*, t. LII, p. 1058, 1900.
- REINER (L.) et STRILICH. — *Zeitschr. f. Imm.forsch. u. exper. Therap.*, t. LXI, p. 405, 1929.
- RÉMY (L.). — Contribution à l'étude des sérums normaux. Sur la pluralité des alexines. *Ann Inst. Pasteur*, t. XVII, pp. 343-56, 1903.
- RENZO (F.) (di). — *Haematologica*, t. X, p. 205, 1929.
- RESCHIA (C.). — Emolisine naturale e alessine secondo Buchner nel siero umano in vari stadi patologici. *Giorn. Batt. e Imm.*, t. XXIV (9), p. 270, 1940.
- RICHET (C.). — L'anaphylaxie. 1 vol., Paris, 1930.

- RIGGIO (G.). — Comportamento del potere complementare per azione del nucleinato di sodio. Suo rapporto con la velocità di sedimentazione dei globuli rossi. *Giorn. Batt. e Imm.*, t. XVII, p. 9, 1936.
- RITZ (H.). — Ueber die Wirkung des Cobragiftes auf die Komplemente. *Zeitschr. f. Imm. Forsch. u. exper. Therap.*, t. XII, p. 62, 1912.
- RITZ (H.). — Ueber die Inaktivierung des Komplementes durch Schütteln. *Ibid.*, t. XV, p. 145, 1912.
- RITZ (H.) und SACHS (H.). — *Ibid.*, t. XXVI, p. 483, 1917.
- ROBERT (J.). — A propos de l'analyse capillaire de l'alexine. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVI, n° 27, p. 437-39, 1937.
- ROCKWOOD (R.) and BELLER (C.). — Study of complement in serum of diabetic and uremic patient. *The Jl. of inf. dis.*, t. XXXIV, p. 625, 1924.
- ROMANO (S.). — Azione dell'aria compressa sugli animali. Influenza sul potere complementare. *Bol. Soc. Ital. Biol. Sperim.*, t. IX, p. 530, 1934.
- ROMANOW (B.-J.). — *Zeitschr. f. Immun. Forsch. u. exper. Path.*, t. XLV, p. 74, 1926 (cité par Osborn).
- RONCHÈSE (A.-D.). — Conservation du pouvoir complémentaire du sérum de cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, t. CVI, pp. 19-20, 1931.
- RONCHÈSE (A.-D.). — La réaction de Bordet-Wassermann. 1 vol., Masson et Cie éditeurs, Paris, 1919.
- RONDONI (P.). — *Zeitschr. f. Immun. Forsch.*, t. LXXXII, p. 86, 1900 (cité par Belfanti).
- RUBINSTEIN (M.). — Traité pratique de sérologie et de séro-diagnostic. 1 vol., Maloine éditeur, Paris, 1932.
- RUEDIGER (E.-M.). — *Jl. Amer. Med. Assoc.*, t. LXXIX, p. 551, 1922.
- RUFFNER (E.). — Zur Konservierung des Meerschweinchenkomplement. *Zeitschr. f. Imm. Forsch. u. exper. Therap.*, t. LX, p. 166, 1920.
- RYOICHI SHIMONAKA. — Sur la fixation successive des divers composants de l'alexine hémolytique sur les globules sensibilisés. *Jl. Chos. Med. Assoc.*, t. XXVIII, pp. 5-48, 1938.
- RYOICHI SHIMONAKA. — Alexine hémolytique et humeur aqueuse. *Ibid.*, t. XXVIII, p. 50, 1938.
- RYWOSCH (M.). — Ueber Hämolyse und Baktericidie des embryonalen Hühnerbluter. *Centralbl. f. Bakt.*, t. XLIV, p. 468, 1907.
- SACHS (H.). — Gibt einheitliche Alexinwirkungen. *Berlin. Klin. Woch.*, t. III, pp. 182 et 216, 1902.
- SACHS (H.). — Ueber Differenzen der Blutbeschaffenheit in verschiedenen Lebensaltern. *Centralbl. f. Bakt.*, t. XXXIV, p. 686, 1903.
- SACHS (H.). — Ueber das Zusammenwirken normaler und immunisatorisch erzeugter Ambozeptoren bei der Hämolyse. *Deutsch. Med. Woch.*, 31^{me} année, p. 705, 1905.
- SACHS (H.). — Ueber die Beziehungen des Kobragiftes zu den roten Blutzellen. *Münch. Med. Woch.*, 1908, 55^{me} année, p. 437, 1908.

- SACHS (H.) und ALTMANN (K.). — Die « Hydrolabilität » des Komplements und ihre Ursachen. *Biochem. Zeitschr.*, t. LXXVIII, p. 46, 1916.
- SACHS (H.) und BÖLKOWKA (G.). — *Zeitschr. f. Immun. forsch. u. exper. Ther.* t. VII, p. 778, 1910 (cité par Osborn).
- SACHS (H.) und KLOPSTOCK (A.). — « Methoden der Hämolyseforschung », 1 vol. 185 pages. Extrait du « *Handbuch der Biologischen Arbeitsmethoden* » publié par Abderhalden.
- SACHS (H.) und OMOROKOW (L.). — Ueber die Wirkung des Cobragiftes auf die Komplemente. *Zeitschr. f. Immun. forsch. u. exper. Therap.*, t. XI, p. 710, 1911.
- SACHS (H.) und TERUUCHI (Y.). — Die Inaktivierung der Komplemente im salzfreien Medium. *Berlin. Klin. Woch.*, 44^{me} année, pp. 467-520 et 602, 1907.
- SAITO (N.). — *Z. Microbiol. (Japanische)*, t. XIV, 1920 (cité par Toda et Misuse, 1933 et par Osborn, 1937).
- SAITO (N.). — Complément et lymphe. *Arbeit. Anat. Inst. Kaiserl. Univers. Kyoto*, série D, n° 7, p. 143, 1938.
- SANDSTRÖM (L.). — Ueber die Komplementvariation in Blut bei experimenteller Meerschweinchentuberkulose. *Acta Path. et Microb. scand.*, t. VI, p. 97, 1929.
- SAVULESCO (Tr.). — *Arch. Roum. Path. comp. et Microb.*, t. IX, p. 209, 1936 (cité par Magrou : contribution à l'étude de l'immunité chez les plantes).
- SAWCHENKO et BERDNIKOV. — Sur les cytases et sur les propriétés hémolytiques des extraits d'organes hématopoïétiques. *Russk. Archiv. Pathol. Klin. Med. Bakteriolog. St. Petersb.*, t. XIV, pp. 760-83 et 796-800, 1902.
- SCAFFIDI (V.). — Einfluss des Schüttelns, der ultravioletten Strahlen und der Röntgenstrahlen auf das Komplement und den hemolytischen Amboceptor. *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. exper. Therap.*, t. LXIX, p. 162, 1915.
- SCAFFIDI (V.). — Sulla natura e sul meccanismo di azione del complemento nella emolisi specifica. *Riv. di Patol. sper.*, t. XIV, p. 1, 1935.
- SCARTOZZI (C.). — Azione del insulina sul potere complementare in rapporto alla guarigione delle ferite chirurgiche (ricerche sulla cavia). *Arch. Sc. Medica.*, t. V, p. 495, 1936.
- SCARTOZZI (C.). — Le pouvoir complémentaire du sérum du sang dans les tuberculoses chirurgicales. *Boll. Ist. Sier. Mil.*, t. IX, p. 49, 1937.
- SCARTOZZI (C.). — Del potere complementare. Lavori originale. *Giorn. Batt. e Imm.*, t. XVIII (6), pp. 721-66, 1937.
- SCARTOZZI (C.). — Sul comportamento del potere complementare del siero di sangue negli interventi chirurgici. *Giorn. Batt. e Imm.*, t. XVIII, *Ibid.*, t. XVIII, pp. 786-99, 1937.
- SCARTOZZI (C.). — Pouvoir complémentaire faible à caractère familial. *Boll. della Sezione Ital.*, p. 351, 1937 (VI^{me} Congrès de Microbiologie de Milan).
- SCARTOZZI (C.). — Pouvoir alexique dans différents états pathologiques et physiologiques de l'homme. *Giorn. Batt. e Imm.*, t. XIX, décembre 1937.
- SCARTOZZ (C.). — Leucociti e complemento. *Ibid.*, t. XX (3), p. 579, 1938.

- SCARTOZZI (C.). — Comportamento di alcune proprietà sierologiche del sangue nella fatica sportiva. *Ibid.*, t. XX (5), p. 1050, 1938.
- SCARTOZZI (C.). — Rapporti tra vitamine ed alcuni potere immunitari. Vitamine C. *Ibid.*, t. XXI (6), p. 902, 1938.
- SCARTOZZI (C.). — Rapporti tra vitamine ed alcuni potere immunitari. Vitamine E. *Ibid.*, t. XXI (6), p. 946, 1938.
- SCARTOZZI (C.) e GRIVA (E.). — Il potere complementare nella tubercolosi. *Ibid.*, t. XVIII, pp. 766-85, 1937.
- SCARTOZZI (C.) e RESCHIA (C.). — Complemento e quadro proteico anche in rapporto e fattori fisici di inattivazione. *Ibid.*, t. XXI (6), p. 925, 1938.
- SCHILF (F.). — *Centralbl. f. Bakt.*, t. XCII, p. 438, 1924 (cité par Diacono).
- SCHILF (F.) und KLUNG (H.). — *Ibid.*, t. XCIX, p. 478, 1926 (cité par Diacono).
- SCHMIDT (H.). — The inactivation of complement by mechanical agitation. *The Jl. of Hyg.*, t. XIII, p. 291, 1913.
- SCHMIDT (H.). — Ueber die Wirkung des Schüttelns auf serum mit Gesonderer Berücksichtigung der Komplementwirkung des Meerschweinchen-serums. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, t. LXXXVIII, p. 495, 1919.
- SCHMIDT (H.). — Ueber das künstliche Komplement bei der immunhämolyse. *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. exper. Therap.*, t. XL, pp. 368-82, 1924.
- SCHMIDT (P.). — *Arch. Hyg. Berl.*, t. LXXVI, p. 284, 1912 (cité par Osborn).
- SCHMIDT (P.) und LIEBERS (M.). — Zur Frage der Cobragift — Inaktivierung der hämolytischen Komplements. *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. exper. Ther.*
- SCHUBERT (J.). — *Ibid.*, t. LVIII, pp. 106 et 499, 1928 (cité par Osborn).
- SCHUBERT (J.). — *Ibid.*, t. LXVII, p. 367, 1930 (cité par Osborn).
- SCHUBERT (J.). — *Centralbl. f. Bakt.*, t. CXXII, p. 82, 1931 (cité par Osborn).
- SCHUCHARD (E.). — Titre alexique des sérums humains. *Zeitschr. Immunitätsf.*, t. XCVII, pp. 1-14, 1939.
- SCHÜTZ (F.). — Vergleichende Untersuchungen über Vermittlung der Komplementwirkung und Komplementinaktivierung durch Schlangengifts. *Zeitschr. f. Imm. u. exper. Therap.*, t. XLIV, p. 105, 1925.
- SCHÜTZE (A.) und SCHUELLER (R.). — *Zeitschr. Infekt. Krank.*, t. XXXV, p. 459, 1901 (cité par Osborn).
- SCHÜTZE (H.) and ZILVA (S.-S.). — *Jl. Hyg. Camb.*, t. XXVI, p. 204, 1927 (cité par Osborn).
- SCIMONE (V.). — *Zeitschr. f. Immun. forsch. u. exper. Therap.*, t. XXXVI, p. 443, 1923 (cité par Diacono).
- SÉDAN (J.) et HERMAN (procédé de), in Dopter et Sacquépée, p. 618.
- SEGALE (M.). — *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. exper. Therap.*, t. LXV, p. 285, 1911 (cité par Osborn).
- SELIGMANN (F.). — Zur Kenntnis der Seruminaktivierung. *Biochem. Zeitschr.*, t. X, p. 430, 1908.

- SEROCCA (P.). Ricerche siero entologiche nelle cavia trattate con estratto acetico del B. di Koch. *Folia Medica*, n° 7, p. 369, 1927.
- SHERWOOD (N.-P.). — The effect of urea on immunological reactions. *The Jl. of inf. dis.*, t. XXXI, p. 252, 1922.
- SHIRGLEY (E.-W.) and IRWIN (M.). — On the difference in activity of serum complement from various animal species. *The Jl. of Immunol.*, t. XXXII, p. 282, 1937.
- SHIMOAKA (T.). — *Arbeit. Anat. Kaiser. Univers. Kyoto, série D.*, n° 7, p. 147, 1938.
- SICARD, FOIX et SALIN. — Réactions du liquide céphalo-rachidien au cours de la pachyméningite pottique. *Soc. Neurologie, Paris*, déc. 1910.
- SICÉ (A.). — Recherches sur le pouvoir flocculant des Trypanosomés. *Bull. Soc. Path. exot.*, t. XXII, p. 912, 1929.
- SIERAKOWSKI et ZABLOCKI. — Quantité de complément fixé en fonction du pH dans la séro-réaction de Bordet et Gengou. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXIII (27), p. 1265, 1933.
- SILBER (L.-A.). — Ueber die thermostabilität des Alexins. *Zeitschr. f. Imm.forsch. u. exper. Therap.*, t. LXV, p. 285, 1930.
- SILBER (L.-A.) und SCHAFFRAN (S.). — Weitere untersuchungen ueber die Thermostabilität und Natur des Komplements. *Ibid.*, t. LXXVII, p. 514, 1932.
- SILBERSTEIN (F.), RAPOPPORT (P.) und PISTINER (R.). — Chemische Veränderungen im Serum, während der Komplementbildung. *Klin. Woch.*, t. XIV, p. 1293, 1935.
- SIMOLA (P.-E.) und BRUNIUS (E.). — *Biochem. Zeitschr.*, t. CCLVIII, p. 228, 1933 (cité par Osborn).
- SMITH (G.). — *Jl. of Immunol.*, t. XII, p. 205, 1926 (cité par Osborn).
- SOLLING (P.). — Der Komplementgehalt von Seren von Neugeborenen Säuglingen und Fröchten. *Zeitschr. f. Immun.forsch. u. exper. Therap.*, t. XCI, p. 15, 1937.
- SONNENSCHN (C.). — *Zeitschr. f. Imm.forsch. u. exper. Therap.*, t. LXVI, p. 330 et t. LXVII, p. 512, 1930.
- SPADOLINI (I.). — L'inattivazione del potere complementare dei sieri da concentrazione superficiale.
- L'inattivazione del concentrazione superficiale di anticorpi e di fermenti. *Archiv. de Fisiologia*, t. XII, p. 357, 1914, et t. XIII, p. 55, 1915.
- STEEG (J.). — Action du bromure de sodium sur la conservation de l'alexine de cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXXVIII (23), p. 1407, 1938.
- STEIN (S.). (M^{mo}). — La transfusion du sang conservé. Instrumentation et technique (Travail du Centre national de transfusion sanguine). 1 vol., 92 pages. Imprimerie Toulousaine, Léon et Fils éditeurs.
- STRONG (P.-S.) and CULBERSTON (J.-T.). — *Jl. Hyg. Camb.*, t. XXXIV, p. 522, 1934 (cité par Osborn).
- SWEET (J.-O.). — The reaction of the blood in experimental diabetes mellitus. A contribution to our knowledge of the thermolabile complements. *Jl. of Med. of Med. Research*, t. X, p. 255, 1903.

- SYOKITI UENO. — Etude sur les composants de l'alexine. Sur la fixation du chaînon moyen de l'alexine dans l'hémolyse. Sur la fixation du quatrième composant de l'alexine. *Japan. Jl. Med. Sc.*, t. II, pp. 221, 224, 225, 229, 1938.
- TESTA (C.). — Influenza dell'insulina sul potere complementare del siero del sangue. *Rassegna di Ter. e path. clin.*, t. VII, p. 397, 1935.
- THIOTTA. — *Jl. of Immun.*, t. V, p. 1, 1920 (cité par Osborn).
- THOMPSON (R.-L.). — An experimental study of the bacteriolytic-complement of the blood serum in normal, vaccinated and variolated rabbits. *Jl. of med. Res.*, t. X, p. 63, 1903.
- THOMPSON (R.-L.). — The bacteriolytic complement of the bloodserum in variola. *Ibid.*, t. X, p. 71, 1903.
- THORSCH (M.). — Untersuchungen ueber die 3 Komponente des Komplements. *Biochem. Zeitschr.*, t. LXVIII, p. 67, 1914.
- TISSOT (J.). — Rôle de la dissociation des savons dans le mécanisme de l'inactivation des serums par addition de sels, d'acides chlorés, d'acide carbonique ou de globuline. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLVIII, p. 1923, 1914.
- TODA (T.) und MITSUSE (B.). — Studien ueber die Komponenten des hämolytischen Komplements. I. Feststellung der Vorhandenseins von der 4 Komponente und von der 5 Komponente des Komplements. *Zeitschr. f. Imm.forsch. u. exper. Therap.*, t. LXXIII, p. 65, 1933.
- TOKANO (Y.). — Ueber die Inaktivierung des Komplements, imberondere der 4 Komponente durch verschiedene Eingriffe. *Zeitschr. f. Imm.forsch. u. exper. Therap.*, t. LXXXVII, p. 29, 1936.
- TOKANO (Y.). — Ueber die Vermittlung der Komponentenfunktion durch schlangengifte. *Ibid.*, t. LXXXVII, p. 72, 1936.
- TOKUNAGA (H.). — Die Erforschung der Komplements. Ueber den Einfluss verschiedenartiger Salzlösungen auf die Komplementwirkung. *Centralbl. f. Bakt.*, t. CVII, p. 283, 1928.
- TOKUNAGA (H.). — Ueber der Wert der isotonischen Kal — Acetaltlösung bei der Komplementwirkung. *Ibid.*, t. CVII, p. 288, 1928.
- TOKUNAGA (H.). — Ueber das Verhalten der Ammonsalze zu Meerschweinchen-serum. *Ibid.*, t. CXI, p. 470, 1929.
- TOKUNAGA (H.). — Ueber die Wirkung des Ammonsulfates auf das Komplement. *Ibid.*, p. 478, t. CXI, 1929.
- TOKUNAGA (H.). — Ueber den Gehalt an Komplement Komponenten in den mit Ammonsulfate giffelten Fraktionen. *Ibid.*, t. CXV, p. 197, 1930.
- TOKUNAGA (H.). — Ueber den Gehalt Komplement — Komponenten im mittels CO² Durch leitung gespaltenen Meerschweinchen-serum. *Ibid.*, t. CXV, p. 203, 1930.
- TOMASINO (A.). — *Cervello*, t. XIII, p. 1, 1934 (cité par Osborn).
- TOPLEY (W.-C.). — *Proc. Royl. Soc. B.*, t. LXXXVIII, p. 396, 1914-1915 (cité par Osborn).

- TOYAMMA (I.) and KOLMER (J.-A.). — The influence of arsphenamine and mercuric chlorid upon complement and antibody production. *The Jl. of Immun.*, t. III, p. 304, 1918.
- TRAUBE (J.). — *Biochem. Zeitschr.*, t. X, p. 371, 1908 (cité par Diacono et Osborn).
- TRIVELLINI (A.) e MAURI (A.). — Sul comportamento di alcune reazioni sierologiche nei traumatizzati. *Giorn. Batt. e Imm.*, t. XVIII, pp. 812-834, 1937.
- TROMMSDORFF (R.). — Ueber den Alexingehalt normales und pathologischen menschlichen Blutsera. *Centralbl. f. Bakt.*, t. XXXII, p. 439, 1902 et *Arch. f. Hyg.*, t. LIX, 1906.
- TROSSARELLI. — *Giorn. Batt. e Imm.*, agosto 1927. (Cité par Scartozzi).
- TSURU (J.). — Ueber komplementbnahme bei den verschiedenen formen der anaphylaxie. *Zeitschr. f. Imm. forsch. u. exper. Therap.*, t. IV, p. 612, 1910.
- TUBANGUI (M.-A.) et MASILUNGAN (V.-A.). — Studies on the cercaricidal property of the sera of vertebrate animals. *The Philip. Jl. of Sc.*, t. LX (4), pp. 393-398, 1936.
- UHLENHUT (P.). — *Deutsch. med. Woch.*, numéros 31 et 51, 1906 (cité par Scartozzi).
- VALLEY (G.) and MAC ALPINE (J.-A.). — *The Jl. of Immunol.*, t. XV, p. 313, 1928 (cité par Osborn).
- VASILE (B.), GRANOZZI (G.) et PERCORELLA (F.). — Influenza dell tallio in dosi terapeutiche e in dosi tussiche sul potere opsonico e complementare del siero di sangue, sul potere battericida del sangue in toto e sulla velocita di sedimentazione delle emazie. *La Pediatria*, n° 3, p. 493, 1937.
- VEIL (W.-H.). — *Acta rheum. Amst.*, t. IV, p. 21, 1932 (cité par Netousek et Pesek, par Scartozzi et par Osborn).
- VEIL (W.-H.) und BUCHHOLZ (B.). — *Klin. Woch.*, t. XI, p. 2019, 1932 (cité par Netousek et Pesek, par Scartozzi et par Osborn).
- VELLARD (J.) et MIGUELLOTTE-VIANNA (M.). — Action des venins ophidiens sur le complément. *C. R. Soc. Biol.*, t. CVII, p. 177, 1931.
- VELICOGNA (A.) e TABUSSO (L.). — *Boll. Inst. Sier. Milan*, t. XI, p. 522, 1932.
- VERDINA (C.). — *Giorn. Batt. e Imm.*, t. I. p. 613, 1926 (cité par Scartozzi).
- VERDOLINI (G.). — Il potere complementare del siero di sangue in interventi chirurgici otolaryngoiatrici. *Ibid.*, t. XXI (8), p. 890, 1938.
- VINCENT (H.). — Note sur les variations du complément dans l'accès palustre. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXIX, p. 563, 1910.
- VINCENT (H.). — Sur le déficit alexique du sérum dans le surmenage ou la fatigue aiguë. *Ibid.*, t. LXXXI, p. 379, 1918.
- VINCENT (H.). — La dysphylaxie hépatique. Ses conséquences physiopathologiques et ses rapports avec le déficit alexique des sérums. *C. R. Ac. Sc.*, t. CCX, pp. 725-27, 1940.
- VINCENT (H.) et MOREL (C.). — Sur le déficit alexique déterminé par l'hyperthermie expérimentale. *C. R. Ac. Sc.*, t. CC, pp. 279-281, janv. 1935.
- VIRGILLO (S.). — *Giorn. di Med. Milit.*, t. LXXVII, p. 140, 1929.

- VLÈS (F.), PRAGIER (M.) et BERNSTEIN (N.). — *C. R. Ac. Sc.*, t. CXCH, p. 1056, 1931.
- VLÈS (méthode de). — In Heck Grossmann, *Vigot éditeur, Paris*, 1935.
- WADSWORTH (A.), MALTANER (F.) and MALTANER (E.). — The anticoagulative action of organic acids, and of heparin and the organic base diethylamine. *The Americ. Jl. of Physiol.*, t. CXIX, p. 80, 1937.
- WADSWORTH (A.), MALTANER (F.) and MALTANER (E.). — The inhibition of complementary activity by anticoagulants. *The Jl. of Immunol.*, t. XXXIII, p. 297, 1937.
- WALKER (E.-W.). — *The Jl. of Physiol.*, t. XXXIII, 1905 (cité par Osborn).
- WALRAVENS. — Recherches relatives à l'altération du « M » (phénomène de Brand). *Bull. Acad. Roy. de Belg.*, 4^{me} série, t. XXX, p. 266, 1920.
- WASSERMANN (A.). — *Deutsch Med. Woch.*, t. XXVIII, p. 117, 1902.
- WASSERMANN (A.-V.) et CITRON. — *Zeitschr. f. exper. Path.*, t. IV, p. 273, 1907.
- WATANABE (S.). — *The Jl. of Immun.*, t. IV, p. 77, 1919.
- WECHSBERG (F.). — Verhandlungen ärztlichen Gesellschaften und Kongressberichte. Theoretisches ueber die antikörper im Blute. *Wien. Klin. Woch.*, 14^{me} année, p. 1194, 1901.
- WEIL (E.). — *Biochem. Zeitschr.*, t. XLVIII, p. 347, 1913 (cité par Osborn).
- WEIL (E.) and KAFKA (V.). — *Wien. Klin. Woch.*, n° 10, 1911 (cité par Scartozzi et Diacono).
- WEIL (E.) and KAFKA (V.). — *Med. Klin.*, p. 456, 1924 (cité par Scartozzi et Diacono).
- WEILL et DUFOURT (A.). — Effets des injections de bicarbonate de soude sur la teneur en alexine du milieu sanguin. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 802, 1913.
- WELLS (H.-Gédéon). — Les aspects chimiques de l'immunité. Traduit et annoté par L. Boëz. 1 vol. 371 pages, *Doin éditeur, Paris*, 1928.
- WENDELBERGER (J.). — Ueber vergleichende Komplementuntersuchungen bei gonorrhöischen und rheumatische affektionen. *Wien. Klin. Woch.*, t. XLVII, p. 967, 1934.
- WENDELSTADT (H.). — *Centralbl. f. Bakt.*, t. XXXI, p. 469, 1902 (cité par Diacono).
- WERIGO. — *Ann. Inst. Pasteur*, 1891 (cité par Gengou, par Scartozzi et par Bordet).
- WERKMANN (C.-H.). — *The Jl. of inf. dis.*, t. XXXII, pp. 247-55-63, 1923 (cité par Osborn).
- WESTON (G.). — The preservation of reagents used in the Wassermann Reaction. *Jl. of Med. Res. Boston*, t. XXXII, p. 391, 1915.
- WHITEHEAD (H.-R.), GORDON (J.) and WORMALL (A.). — The « third component » or heatstable factor of complement. *The Biochem. Jl.*, t. XIX, p. 618, 1925.
- WHITEHEAD (H.-R.), GORDON (J.) and WORMALL (A.). — The relatively heat stable component of complement. *The Jl. of Immunol.*, t. XIII, p. 439, 1927.

- WILLIAMS (O.-B.) and CAR (F.-R.) (van der). — *Proc. Soc. Exp. Biol. New-York*, t. XXIV, p. 798, 1927.
- WILLIAMS (O.) and DOUGHERTY (T.). — *Jl. of Immun.*, t. XXXVI, pp. 559-61, 1939.
- WOLLMANN (E.). — Recherches sur l'origine de l'alexine et sa présence dans le sang circulant. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XXVII, p. 1063, 1913.
- WORMALL (A.), WHITEHEAD (H.-R.) and GORDON (J.). — *The Jl. of Immunol.*, t. X, p. 587, 1925.
- WRIGHT (H.-D.) and MAC CALLUM (P.). — *Jl. Path. Bact.*, t. XXV, p. 316, 1922.
- WULF (F.). — Recherches sur les substances bactéricides du sérum humain particulièrement pendant la fièvre. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXIX, p. 424, 1935.
- YAMAGUCHI. — 1929 (cité par Toda et Misuse, 1933).
- YANAGISAWA (K.). — *Jl. Biochem. Tokyo.*, t. XIII, p. 11, 1931.
- YORKE (W.). — On the variation of the haemolytic complement in experimental trypanosomiasis. *Ann. of trop. Med. and Parasit.*, t. III, p. 565, 1910.
- YOSHIDA (K.). — Ueber die Veränderungen des Komplementgehaltes im Verlaufe von antiluetischer Behandlung bei syphilikern nach verschiedenen Blutgruppen. *Fukuoka Acta Medica*, t. XXVIII, p. 63, 1935.
- ZEISSLER (J.). — Komplementschädigung durch Schütteln. *Berlin. Klin. Woch.*, t. XLVI, p. 2340, 1909.
- ZILVA (S.). — The influence of deficient nutrition on the production of agglutinins, complement and amboceptor. *The biochem. Jl.*, t. XIII, p. 172, 1919.
- ZIRONI (A.) e NOSOTTI (N.). — *Boll. Ist. Sier. Milan.*, t. IX, p. 237, 1930.
- ZUPPA. — « *Il Morgagni* », 18 mai 1927.
-

Table des Matières

INTRODUCTION	15
FRACTIONNEMENT DE LA PROPRIÉTÉ COMPLÉMENTAIRE	21
L'ALEXINE « IN VITRO »	37
1. Facteurs agissant sur l'alexine <i>in vitro</i>	38
2. Les diverses manifestations de l'action alexique <i>in vitro</i>	64
L'ALEXINE « IN VIVO »	81
L'alexine chez les êtres vivants	81
Répartition dans l'organisme	87
Variations physiologiques et expérimentales	93
Variations pathologiques	114
Origines du complément <i>in vivo</i>	131
L'ÉTENDUE DE LA PROPRIÉTÉ COMPLÉMENTAIRE	145
Les manifestations certaines	145
Relations entre l'action complémentaire et certains phénomènes biologiques	157
NATURE DE L'ACTION COMPLÉMENTAIRE	171
APPLICATIONS PRATIQUES	185
Dosage du pouvoir complémentaire	185
Conservation de l'alexine	213
Alexine artificielle	219
A propos des réactions de déviation du complément	221
Élimination du pouvoir inhibiteur exercé par l'alexine au cours des hémocultures	226
Complément et défense de l'organisme. Possibilité d'une utilisation thérapeutique de l'alexine	229

TRAVAUX PERSONNELS	233
1. Etablissement du titre alexique des sérums de diverses espèces animales	233
Détermination du titre alexique normal des sérums humains	237
Variations expérimentales	239
Le pouvoir alexique en pathologie humaine	253
Essais de conservation de l'alexine en plasma citraté	277
CONCLUSION	285
BIBLIOGRAPHIE	289

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Etre suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !
